

SELECCIÓN EJERCIDA POR
MUTUALISTAS Y ANTAGONISTAS
SOBRE EL TAMAÑO DE FRUTO DE
Crataegus monogyna



Mar Sobral Bernal

**UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
DEPARTAMENTO DE BIOLOXÍA CELULAR E ECOLOXÍA**



SELECCIÓN EJERCIDA POR MUTUALISTAS Y ANTAGONISTAS
SOBRE EL TAMAÑO DE FRUTO DE *Crataegus monogyna*

Memoria presentada por D^{ña} María del Mar Sobral Bernal, para optar al Grado
de Doctora en Biología

Santiago de Compostela, 24 de Marzo de 2010

D. Asier Rodríguez Larrinaga, Doctor en Biología y D. José Guitián Rivera, Doctor en Biología y Profesor Titular del Departamento de Biología Celular e Ecoloxía de la Universidade de Santiago de Compostela,

CERTIFICAN

Que la presenta memoria con título “Selección ejercida por mutualistas y antagonistas sobre el tamaño de fruto de *Crataegus monogyna*” elaborada por la licenciada en Biología D^{ña} María del Mar Sobral Bernal, ha sido realizada bajo su dirección en el área de Ecoloxía del Departamento de Biología Celular e Ecoloxía de la Universidade de Santiago de Compostela, y considerándola concluida, autorizan su presentación al tribunal calificador para optar al Grado de Doctor en Biología.

Santiago de Compostela, a 24 de Marzo de 2010

Dr. Asier Rodríguez Larrinaga

Dr. José Guitián Rivera

Asier R. Larrinaga y José Guitián han sido unos directores entusiastas y dedicados, cada uno a su estilo y en diferentes momentos, que me han sabido transmitir el amor por el campo, por los datos y por las cosas bien hechas.

Pablo Guitián demostró su interés por mi tesis en todo momento, lo cual agradecí muchísimo. Revisó todos los capítulos de la memoria y fue de gran ayuda en numerosos aspectos, entre otros, la mayoría de las fotos de la memoria son suyas y prestó su finca para realizar el experimento de germinación.

El grupo de anillamiento Hércules, Paco, Felipe y Miguel, me llevaron a anillar y me enseñaron a colocar redes y manipular pájaros para que me pudiese desenvolver en Alemania. Quiero agradecer a Franz Bairlein por su acogida en el instituto de investigación aviaría Volgelwarte Helgoland y sus sugerencias en varios aspectos del diseño experimental. Tim Copack, Pavel Ktitorov, Ivan Maggini, y Ben Metzger fueron de gran ayuda durante el trabajo de campo y laboratorio en Wilhelmshaven. Ignacio Munilla revisó el primer capítulo y las conclusiones.

Patricia M. Leyenda me ayudó muchísimo durante el trabajo de campo del segundo capítulo. En la labor de campo de manera breve también participó mi amigo Paul Rohmer. Mis abuelos Ester Fernández y Cholo Sobral me regalaron los prismáticos en los primeros momentos en que yo subsistía sin financiación. En este capítulo fue de gran valor la animosa colaboración de César Sánchez en ciertos aspectos estadísticos.

Xose Luis Otero dirigió los análisis químicos de los suelos, que fueron realizados en su laboratorio y posteriormente revisó el tercer capítulo, Ignacio García me prestó el material y me enseñó el procedimiento para estimar la edad de los árboles. Martín Piazzon colaboró en la medida de los tamaños de cosechas, Paula Domínguez, Pablo Guitián, Ainhoa Magrach, Gus Sánchez, Tania Veiga, Cristina y Alba colaboraron en distintas fases del tercer capítulo, desde la medida de los frutos y semillas a la extracción de muestras de tierra. Adrián Costa participó en la extracción de muestras de madera para estimar las edades de los árboles.

Pablo Guitián, Asier R. Larrinaga, Ainhoa Magrach y Paula Domínguez vinieron conmigo por Europa buscando poblaciones de espinos y midiendo miles de frutos y semillas.

Chiño Romero y Teresa Vernadal contribuyeron al día a día, café tras café. Chiño además me ayudó a realizar los mapas de la memoria. Gracias a mis compañeros y amigos Adrián Lamosa, Xosé Pardavila y Lucía Latorre por todo el apoyo en el limbo entre la fiesta y la academia. Adrián L. es el autor de los dibujos de las contraportadas.

Por supuesto existen muchas otras personas que no han colaborado directamente en este trabajo pero que han sido imprescindibles (finalmente y de milagro mi vida no se ha reducido exclusivamente a esto en los últimos años). También cabe agradecerles a ellas su ayuda en el día a día. Gracias a Zara y a todos los amigos por vuestro interés al preguntarme por mi trabajo. En los momentos difíciles me hacíais consciente de mi suerte al poder dedicar mi tiempo a esta labor.

Gracias a mamá y a Manuel por vuestra generosidad acogiéndome en los momentos finales y vuestra disponibilidad.

Gracias a papá y a Amelia por vuestro interés y apoyo desde mucho antes del comienzo de este trabajo.

Gracias a Adri por su paciencia infinita y por ser único, la nube y el diamante.

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Ciencia y Educación (proyecto CGL2005-03826) y la Comisión Europea (programa FEDER). Además disfruté de un contrato predoctoral Mº Barbeito en la Universidade de Santiago concedido por la Consellería de Innovación e Industria de la Xunta de Galicia.



Lámina 1: a) Aviario del instituto de investigación Vogelwarte Helgoland, Wilhemshaven, noviembre 2005. b) Una de las poblaciones de *Crataegus monogyna* estudiadas en Gales, Bronaber, octubre 2007. c) Una de las poblaciones de *Crataegus monogyna* estudiadas en Galicia, Mostad, mayo 2006. d) Detalle de frutos de *Crataegus monogyna* en una de las poblaciones estudiadas en Escocia, Aberscross, octubre 2007. e) Detalle de las ramas de *Crataegus monogyna* después del paso de las aves en una de las poblaciones estudiadas en Escocia Aberscross, diciembre 2007.

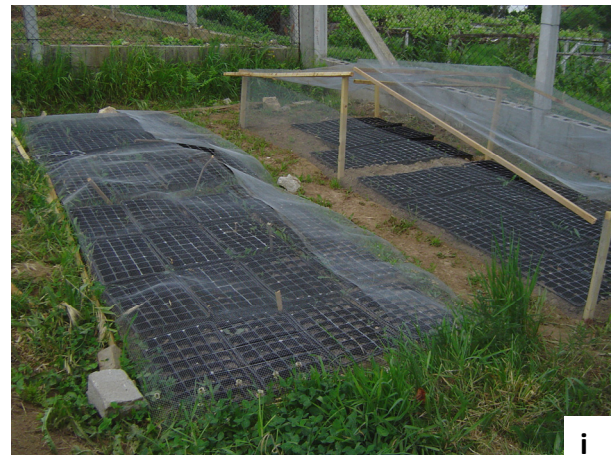


Lámina 2. f) Una de las poblaciones de *Crataegus monogyna* estudiadas en el Bierzo, Carucedo 2007. g y h) Restos de depredación de semillas de *Crataegus monogyna* por roedores en una de las poblaciones estudiadas en Escocia. Stonehaven, diciembre 2007. i y j) Semilleros utilizados en los experimentos de germinación y disposición de las mallas protectoras, Vedra, Abril 2005.

Tabla de Contenidos

Abstract	1
Resumen	7
Introducción general	15
Capítulo 1	
Fruit size preferences in wild and naïve blackbirds (<i>Turdus merula</i>) feeding on hawthorn fruits (<i>Crataegus monogyna</i>). "The Auk" in Press 2010.	31
Capítulo 2	
Correlated phenotypic selection on the fruit and seed size of hawthorn (<i>Crataegus monogyna</i>) exerted by its dispersers. "Evolutionary ecology" in third review.	53
Capítulo 3	
Variación espacio-temporal del tamaño de los frutos y semillas; Factores abióticos y presiones de selección ejercidas por los dispersantes	77
Capítulo 4	
Factores que afectan a la variación geográfica del tamaño del fruto en las poblaciones de <i>Crataegus monogyna</i>	117
Capítulo 5	
Presiones de selección post-dispersivas. Depredación y germinación de semillas	145
Conclusions	175
Conclusiones	179



ABSTRACT

Fruit size is one of the most commonly studied fruit traits within the context of endozoochory systems. Among other aspects, the importance of fruit size is based on the fact that it has been repeatedly reported as a foraging cue to dispersers and to the high level of heritability that seems to underlie it. However, studies on the role of fruit size in endozoochory systems have typically focused on the selective pressures exerted on mean size, without taking into account variability or the shape of its distribution on intra-individual scales. Furthermore, alternative hypotheses have rarely been considered, thus hindering a powerful analysis of the working hypothesis. I aimed to study the fruit size preferences of the dispersers and the selective pressures that could be driving fruit size evolution in a fleshy-fruit producing plant species, *Crataegus monogyna*. In particular, I tested hypotheses regarding (a) abiotic factors acting on fruit size, such as climatic and edaphic factors, (b) biotic factors, such as fruit size selection exerted by dispersers, (c) selective pressures acting on characters correlated to fruit size, such as seed size or fruit production. I attempted to dissect the effect of each of these factors on fruit size by approaching these issues from different points of view. In a first approach I analyzed the fruit size preference of Blackbird one of the most frequent seed disperser of hawthorn. Then, I turned onto a detailed study on the nature of the selective forces that dispersers are exerting on fruit size. As a next step, I paid attention to local and temporal variation of fruit size and disperser selection, faced against the role of abiotic factors. I further studied the issue of the relative effect of biotic factors versus abiotic factors and correlated characters by focusing on among-population variation along a latitudinal gradient. Fruit size and the possible selective pressures derived from each of these hypotheses were approached by studying the distribution curve, instead of focusing on its mean. Finally, I related fruit size to the reproductive success of the plant by analyzing seed predation, germination and early survival and growth as a function of fruit size.

1. Fruit size preferences in wild and naïve blackbirds (*Turdus merula*) feeding on hawthorn fruits (*Crataegus monogyna*); Frugivorous birds are expected to maximize pulp ingestion, causing them to have a preference for large fruits. Experience and learning may play a role in fruit size choices, but bird species might also show innate preferences. I investigated Hawthorn (*Crataegus*

monogyna) fruit size preferences in wild and naïve Blackbirds (*Turdus merula*) in aviary conditions. The preference patterns of wild and naïve birds were similar although greater differences were found among size classes in the former. When presented with a similar number of fruits per size class, blackbirds preferred large fruits. However, when the same fruit weight per size class was offered, blackbirds reduced overall fruit consumption, and preferences for large fruits became weaker. The results suggest that blackbirds behave as energy intake maximizers when feeding on hawthorn fruits and that they are driven, to some extent, by innate preferences for fruit size. Admittedly this approach is limited in that it is difficult to extrapolate the findings of aviary experiments to the behavior of birds in the field.

2. Do seed-dispersing birds exert selection on optimal plant trait combinations? Correlated phenotypic selection on the fruit and seed size of hawthorn (*Crataegus monogyna*); Seed-dispersing birds can be expected to optimize their energy intake through fruit selection and hence exert a positive selection on fruit pulp content, that is, favoring big fruits with small seeds. On the other hand they may select both average fruit size and its variation. I addressed those issues by analyzing the phenotypic selection exerted by the dispersers of *Crataegus monogyna* on fruit and seed size. Fruit and seed size were analyzed at two ontogenic plant stages: the initial size of seeds (and their fruits) as future individuals and the mean size of fruits and seeds produced by adult plants in a Hawthorn population over a selection episode. Fruit diameter and its within-individual variation were the actual targets of selection for maternal fruit traits, negatively affecting relative fitness, although total selection acted only on mean fruit size. For individual seeds, size selection was positive and directed at fruit diameter and seed length, while the remaining traits were subject to indirect selection. Birds exerted a correlational selection favoring big fruits with small seeds. The total selection exerted on individual seeds was positive and with a similar intensity over all the size traits (diameter and length of fruits and seeds).

3. Spatio-temporal variation in fruit and seed size of *Crataegus monogyna*. Abiotic factors and selective pressures exerted by seed-dispersers; I studied fruit and seed sizes produced by mother trees and the environmental, biotic and abiotic conditions affecting them in three populations of *Crataegus monogyna* in the same region for a period of two years. The objective was to determine the effect of environmental (biotic and abiotic) factors over those traits. The phenotypic traits under study varied between populations and years. The abiotic conditions also fluctuated, affecting fruit and seed size. That influence, however, varied among populations and years and in fact, might depend on the range of variation of the different environmental factors in the different areas. In contrast, the selective pressures exerted by seed-dispersing birds on tree characteristics proved to be constant. On a regional scale, the phenotypic differences found appear to be determined by differences in the abiotic environmental factors, or by other biotic pressures different to those exerted by seed-dispersing birds.

4. Factors affecting geographical differences in fruit size among populations; The inter-population phenotypic variation may indicate adaptive differentiation, but could also be due to historical effects or reflect environmental variation. At each population, mean fruit size and intra-individual variability could be determined by the selection of dispersers or by abiotic factors, or could even be determined by the correlation with seed size. I studied the effect of these factors on the mean fruit size and intra-individual variability of trees in 13 populations across a latitudinal gradient in the distribution range of this species. The fruit size and its variation differ among populations and are unrelated to precipitation or latitude. The biotic selective pressures exerted by seed-dispersers vary among populations but do not explain any of the differences in the phenotypic variables of fruit and seed size. The factor exerting the most notable influence on fruit size and its variability is seed size. On the contrary, among-population differences in seed size are partly explained by latitude, and precipitation explains a fraction of the variance of seed size variability.

5. Post-dispersal phenotypic selection; Seed predation and germination; Seed dispersers only play a role in the evolution of plants if their activity has an effect on the subsequent stages of the life cycle of these plants. Once the seeds have been dispersed, they must overcome the risk of predation, parasite attacks and other environmental stressing factors. Some studies have demonstrated that post-dispersal predation could cancel out or even be opposed to the commonly reported advantages of large seeds in later stages (germination, recruitment...). The seeds of *Crataegus monogyna* are preyed upon by rodents, in my study area almost exclusively by *Apodemus sylvaticus*. I analyze here the relationship between seed size and survival after predation, the probability of germination and the early growth of seedlings. At the mother plant level, I analyze the relationship between the mean size and variability of the produced fruits and seeds and their survival to predation and germination rates. I found conflicting selective pressures at the different stages of the life cycle of the plants. For a dispersed seed, the larger the diameter of the seed, the greater is the probability that it will survive predation. This probability is also affected by the spatial disposition. Later, the advantage of having a large diameter and thick endocarp protecting against predation becomes a drawback, since it has a negative effect on the germination probability. At the tree level, mean size of fruits and seeds and their intra-individual variability affect the survival of the offspring. However, these factors do not explain the differences in the germination probability or growth rates among mother plants.



RESUMEN

El tamaño de fruto es uno de los rasgos de los frutos más comúnmente estudiados en el contexto de los sistemas de endozoocoria. Entre otros aspectos, su importancia se basa en el hecho de que ha sido citado repetidamente como un factor seleccionado por los dispersantes y a su alto nivel de heredabilidad. Sin embargo, los estudios sobre el papel del tamaño del fruto en los sistemas de endozoocoria se han enfocado normalmente en las presiones selectivas ejercidas sobre la media del tamaño, sin tener en cuenta la variabilidad o la forma de la distribución dentro de individuo. Por otra parte, pocas veces se han considerado hipótesis alternativas para explicar las variaciones intra-específicas en los tamaños de frutos y semillas. He estudiado las preferencias de los dispersantes y las presiones selectivas que podrían conducir la evolución del tamaño de fruto en una planta productora de frutos carnosos, *Crataegus monogyna*. En particular, he probado hipótesis alternativas teniendo en cuenta (a) los factores abióticos que actúan sobre el tamaño de fruto, como factores climáticos y edáficos, (b) los factores bióticos, como selección del tamaño de fruto ejercida por las aves dispersantes, (c) las presiones de selección que actúan en caracteres correlacionados con el tamaño de fruto, como el tamaño de semilla o el tamaño de la cosecha. He estudiado estas hipótesis desde diferentes puntos de vista. En primer lugar analicé la preferencia de tamaño de fruto de uno de los dispersantes de espino más frecuente, el mirlo (*Turdus merula*). En segundo lugar estudié de manera detallada la naturaleza de las presiones selectivas que los dispersantes ejercen sobre el tamaño de fruto. En tercer lugar estudié las variaciones espaciales y temporales en el tamaño del fruto y en la selección ejercida por los dispersantes, así como la variación espacio-temporal de algunos factores abióticos y su efecto sobre el tamaño del fruto dentro de poblaciones. Posteriormente, estudié, al nivel de población, el efecto de la latitud, de las precipitaciones, de las presiones de selección ejercidas por los dispersantes y del tamaño de la semilla, sobre el tamaño del fruto producido por los árboles. Para ello recogí información en 13 poblaciones distribuidas a lo largo del gradiente latitudinal de distribución de la especie en Europa occidental. En todos los casos, consideré el tamaño del fruto y las posibles presiones de selección teniendo en cuenta tanto los valores medios como la distribución de valores. De esta forma, consideré también la variabilidad del tamaño de los frutos y de las semillas dentro de individuo, así

como el tipo de presiones de selección (lineal, no lineal), con el objetivo de definir si éstas eran direccionales, estabilizadoras, etc. Finalmente, relacioné el tamaño del fruto y la semilla con el éxito reproductivo de la planta y las presiones de selección ejercidas en tres etapas posteriores a la dispersión. En concreto, estudié la supervivencia a la depredación de semillas, el éxito y la tasa temporal de germinación.

1. Preferencia del tamaño de fruto en mirlos con y sin experiencia alimentándose de frutos de espino albar. Si los pájaros frugívoros maximizan la ingestión de pulpa, tendrán preferencias por los frutos de mayor tamaño. La experiencia y el aprendizaje podrían jugar un papel en las preferencias de tamaño de fruto pero las aves podrían presentar también preferencias innatas. Investigué las preferencias de tamaño de fruto de espino albar (*Crataegus monogyna*) en mirlos (*Turdus merula*) con y sin experiencia de alimentación en la naturaleza. Los patrones de preferencia de mirlos de ambos grupos fueron similares aunque los mirlos con experiencia mostraron preferencias más marcadas entre frutos de distintas clases de tamaños. Cuando se les presentó un número de frutos similar de cada clase de tamaño, los mirlos prefirieron frutos grandes. Sin embargo, cuando se les presentó el mismo peso de frutos de cada clase de tamaño, los mirlos redujeron el consumo total y las preferencias por los frutos grandes se redujeron. Estos resultados sugieren que los mirlos maximizan la obtención de energía cuando se alimentan de frutos de espino y que estas preferencias están conducidas en cierto grado por preferencias innatas sobre el tamaño del fruto. Estos resultados son limitados, ya que es difícil extrapolar las conclusiones de los experimentos de aviario al comportamiento de los pájaros en el campo.

2. ¿Los pájaros que dispersan las semillas ejercen la selección en combinaciones óptimas de los rasgos de las plantas? Selección fenotípica correlacional en el tamaño de fruto y semilla de *Crataegus monogyna*. Se espera que las aves dispersantes de semillas optimicen su ingestión de energía a través de la selección del contenido de pulpa favoreciendo frutos grandes con semillas pequeñas. Por otro lado, podrían estar seleccionando tanto el tamaño de fruto medio como su variación dentro de individuo. Estudié estas hipótesis

analizando la selección ejercida por las aves dispersantes de *Crataegus monogyna* sobre el tamaño del fruto y de la semilla. Los tamaños del fruto y de la semilla fueron analizados en dos estadios ontogénicos de las plantas: el tamaño inicial de las semillas (y de sus frutos) como individuos futuros y el tamaño medio de frutos y semillas producidos por las plantas adultas. El diámetro del fruto y su variación intra-individual fueron los objetivos de la selección sobre los fenotipos maternos y afectaron de manera negativa al éxito reproductivo de la planta, aunque la selección total actuó únicamente sobre el tamaño medio del fruto. Para las semillas individuales, la selección del tamaño fue positiva y dirigida hacia el diámetro del fruto y hacia la longitud de la semilla, mientras que el resto de los rasgos estuvieron sujetos a selección indirecta. Las aves ejercieron selección correlacional favoreciendo frutos grandes con semillas pequeñas. La selección total ejercida sobre las semillas individuales fue positiva y de una intensidad similar sobre todos los rasgos (diámetro y longitud de frutos y semillas).

3. Variación espacio-temporal en el tamaño del fruto y de la semilla, Factores abióticos y presiones de selección ejercidas por los dispersantes.

Estudí los tamaños de frutos y semillas y algunos de los factores ambientales, bióticos y abióticos, que podrían afectarles, en tres poblaciones de *Crataegus monogyna* de la misma región durante un periodo de dos años. El objetivo fue determinar el efecto de dichos factores sobre los rasgos fenotípicos. Los rasgos de tamaño estudiados variaron entre poblaciones y años. Las condiciones abióticas también fluctuaron afectando al tamaño de frutos y semillas. Esta influencia, varió entre poblaciones y años, y, podría depender del rango de variación de los diferentes factores ambientales en las diferentes áreas de estudio. Las presiones de selección ejercidas por las aves dispersantes de semillas sobre las características de los árboles resultaron ser constantes. A escala regional, las diferencias fenotípicas parecen determinadas por diferencias en los factores ambientales abióticos, o por otras presiones de selección diferentes a las ejercidas por las aves dispersantes.

4. Factores que afectan a la variación geográfica del tamaño del fruto en las poblaciones de *Crataegus monogyna*. La variación de las características fenotípicas entre poblaciones de una misma especie podría indicar diferenciación adaptativa, podría ser debida a efectos históricos o reflejar la variación abiótica. En cada población, el tamaño medio del fruto y su variabilidad intra-individual, podrían estar determinadas por la selección ejercida por los dispersantes o por factores abióticos, así como estar determinada por la correlación con el tamaño de la semilla. Estudié el efecto de estos factores sobre el tamaño medio del fruto y sobre su variabilidad intra-individual, en los árboles de 13 poblaciones distribuidas a lo largo del gradiente latitudinal de distribución de la especie en Europa occidental. Los tamaños del fruto y sus variaciones difirieron entre poblaciones pero no estuvieron relacionados con las precipitaciones ni con la latitud. Las presiones de selección ejercidas por las aves dispersantes variaron entre poblaciones pero no explicaron ninguna de las diferencias en las variables fenotípicas del tamaño del fruto y de la semilla. Por el contrario, las diferencias entre poblaciones en el tamaño de la semilla resultaron relacionadas, al menos parcialmente, con la latitud. Asimismo, la precipitación explicó parte de las diferencias en la variabilidad intra-individual del tamaño de las semillas.

5. Selección fenotípica post-dispersiva. Depredación de las semillas, germinación y crecimiento de las plántulas Los dispersantes de semillas sólo juegan un papel en la evolución de las plantas si su actividad tiene efecto en los estadios siguientes del ciclo de vida de éstas. Una vez que las semillas han sido dispersadas, deben superar el riesgo de depredación, los ataques de parásitos y otros factores de estrés ambiental. Algunos estudios han demostrado que la depredación post-dispersiva podría oponerse, a las ventajas que las semillas grandes poseen en estadios posteriores como la germinación y el reclutamiento. Las semillas de *Crataegus monogyna* son depredadas por roedores, casi exclusivamente por *Apodemus sylvaticus*. Analicé la relación entre el tamaño de la semilla y la supervivencia a la depredación, la probabilidad de germinación y el crecimiento temprano de las plántulas. Realicé este análisis a dos niveles, al nivel de la semilla individual y al nivel de la planta madre.

Encontré presiones de selección conflictivas en diferentes momentos del ciclo de vida de las plantas. Al nivel de las semillas, a mayor diámetro, mayor probabilidad de supervivencia frente a la depredación. La supervivencia también se vio afectada por la disposición espacial de las semillas. Más tarde, la ventaja de tener mayor diámetro desaparece, ya que éste presentó un efecto negativo en la probabilidad de germinación. Al nivel de las plantas madre, aquellas con frutos y semillas de mayor diámetro medio y con semillas menos variables, presentaron mayor supervivencia a la depredación. Sin embargo, estos factores no explicaron las diferencias entre árboles en la probabilidad de germinación de las semillas ni en la tasa de crecimiento.



INTRODUCCIÓN GENERAL

La pulpa de los frutos carnosos es un recurso alimenticio para muchos animales frugívoros, especialmente para aves, mamíferos y reptiles (Howe 1986), los cuales establecen un enlace entre la planta madre y el banco de semillas y plántulas, de modo que la regeneración natural de estas poblaciones de plantas depende en gran medida del proceso de frugivoría (Jordano 2000). Esta interacción tiene un papel importante en la demografía de la población de la planta ya que tiene lugar al final de cada episodio reproductivo, lo que le confiere el potencial de anular posibles efectos ocurridos durante etapas anteriores del ciclo (Herrera 1988). A su vez, esta interacción da lugar a la “sombra de semillas” (Janzen et al. 1976), con influencia en el patrón de distribución, supervivencia y establecimiento de nuevas plántulas (Howe et al. 1985, Herrera et al. 1994).

El estudio de los mutualismos entre plantas productoras de frutos carnosos y los animales que ingieren estos frutos y dispersan sus semillas ha recibido una creciente atención durante las últimas tres décadas (véase Jordano 2000 y Herrera 2002a para revisiones recientes). La gran mayoría de los trabajos que han abordado estas interacciones se han centrado en un enfoque evolutivo de las mismas y, por consiguiente, se han basado en la existencia de presiones selectivas mutuas entre plantas y dispersantes. En el caso de los dispersantes, dichas presiones selectivas se ejercerían principalmente a través de la selección de dieta, del procesamiento de las semillas ingeridas y de los patrones de movimiento y defecación (Schupp 1993, Jordano 2000, Herrera 2002a). Sin embargo, en la práctica han sido pocos los trabajos que han abordado las presiones selectivas ejercidas por los dispersantes sobre algún carácter de la planta desde un punto de vista holístico, limitándose en la mayor parte de los casos a la descripción de la ecología de la interacción, bajo la asunción de que las diferencias detectadas entre individuos se transmiten a su descendencia (pero véase Jordano 1995a, Alcántara y Rey 2003).

Por otro lado, la existencia de presiones selectivas ejercidas por los dispersantes ha sido escasamente contrastada frente a hipótesis alternativas. La filogenia, por ejemplo, se ha mostrado a menudo como un factor limitante de primer orden en la evolución de los caracteres del fruto (Jordano 1995b, Eriksson y Ehrlén 1998, Herrera 2002a). También la alometría podría explicar la

variabilidad de ciertos caracteres de los frutos, al menos parcialmente (Primack 1987, Cornelissen 1999, Herrera 2002b).

El tamaño es uno de los caracteres del fruto, y por extensión de la planta, que se ha estudiado más a menudo en relación a la presión selectiva ejercida por los dispersantes en sistemas de endozoocoria (Jordano 2000, Herrera 2002a). Su importancia radica, por un lado, en que limita el número y tamaño de especies dispersantes, y por otro lado, en que a menudo resulta determinante en la selección ejercida por éstos (Herrera 1984, Wheelwright 1985, Piper 1986, Jordano 1987a y b, Herrera 1988, McPherson 1988, Foster 1990, Hegde et al. 1991a, Avery et al. 1993, Sallabanks, 1993, Wheelwright 1993, Fuentes 1994, Alcántara et al. 1997, Izhaki, 2002, Stanley et al. 2002). El tamaño, además, resulta un carácter de gran utilidad en el estudio de la evolución del fruto, debido a que está sujeto a menores limitaciones filogenéticas que otros rasgos del fruto (Jordano 1995b) y a que se ha demostrado su heredabilidad (Wheelwright 1993).

A pesar de la relativa abundancia de trabajos dedicados a estudiar la selección del tamaño de fruto por los frugívoros en sistemas de endozoocoria, aún son escasos los trabajos que abordan la variación inter-individual en las tasas de dispersión en relación al tamaño del fruto (Jordano 2000). Estos estudios están aportando nuevos puntos de vista y planteando nuevas hipótesis de trabajo. Gracias a los estudios realizados a nivel intra-específico se ha relacionado la selección de tamaño con la relación beneficio-coste del fruto (Hegde et al. 1991a), se ha abordado la existencia de heredabilidad (Wheelwright 1993), se ha citado un funcionamiento jerárquico de la selección ejercida por los dispersantes (Sallabanks 1993), se ha analizado la interacción con otros caracteres del fruto susceptibles de ser seleccionados (Jordano 1995a, García et al. 2001, Stanley et al. 2002) y se ha relacionado la selección del tamaño del fruto con diversos componentes post-dispersivos del éxito reproductivo (Alcántara y Rey 2003). La estrecha relación que el tamaño del fruto tiene con el tamaño de la semilla (véase por ejemplo, Herrera 1984, Sallabanks 1992, Herrera et al. 1994, Jordano 1995a) y las variadas presiones selectivas atribuidas a este último carácter (Baker 1972, Hegde et al. 1991b, Hammond y Brown 1995, Moegenburg 1996, Eriksson, 1999, García et al. 2000, Henery y Westoby 2001, Parciak 2002, Rodríguez-Gironés et al. 2003, Moles y Westoby

2003, entre otros) hacen que el tamaño del fruto represente potencialmente una gran influencia sobre el éxito reproductivo de la planta.

A menudo se ha citado la existencia de una limitación del consumo de frutos carnosos por el tamaño de la comisura bucal de los dispersantes y dicha limitación se ha interpretado como la existencia de una presión selectiva direccional negativa (véase por ejemplo, Rey y Gutiérrez 1997, Jordano 2000, Alcántara y Rey 2003). Sin embargo, en ocasiones se puede dar una limitación debida al tamaño de la comisura bucal que resulte en un truncamiento de la distribución de frutos dispersados y, a pesar de ello, darse una preferencia o selección por los frutos más grandes por debajo del umbral impuesto por el tamaño de la comisura. Esto daría lugar a una curva cuadrática de selección del tamaño de los frutos, cuyo análisis por medio de aproximaciones lineales puede conducir a resultados muy variables y de difícil interpretación. La importancia de la forma de la curva de selección resulta crucial para la interpretación evolutiva de la selección del fruto y la comprensión de la interacción planta-animal. Así, mientras que la asunción de linealidad llevaría a interpretar la existencia de una presión selectiva direccional, el resultado de una curva cuadrática del tipo descrito supondría una presión selectiva estabilizadora, que resultaría en una distribución del tamaño del fruto centrada por debajo del umbral de dispersión y con una varianza reducida (siempre suponiendo que dicha curva de selección se traslade sobre el éxito reproductivo, Brodie et al. 1995). Existen indicios de que la selección de los frutos del espino podría ser cuadrática por parte de las aves frugívoras (Larrinaga 2004), es decir, positiva hasta el umbral en el que el tamaño del fruto fuese una limitación en relación con el tamaño de la comisura bucal del ave, a partir del cual la selección sería negativa. El resultado podría ser un desplazamiento de la moda de la distribución de tamaños del fruto hacia valores próximos al umbral máximo de tamaño, lo que supondría una optimización del sistema de endozoocoria (máximo de semillas dispersadas) a pesar de la pérdida que se produce por encima de dicho umbral.

La mayoría de los estudios publicados sobre selección de tamaños de frutos por las aves dispersantes han sido realizados a nivel inter-específico (por ejemplo; Herrera 1984, Wheelwright 1985, McPherson 1988, Fuentes 1994, Rey y Gutiérrez 1997, Izhaki 2002). Estos estudios inter-específicos, sin embargo,

presentan ciertas limitaciones, ya que analizan los patrones creados por presiones selectivas pasadas, dificultando el análisis de los procesos actuales (Schlichting y Pigliucci 1998) e ignorando la variación y covariación a escala intragenérica e intraespecífica (Tewksbury 2002). Se hace preciso por tanto complementar estos estudios con aproximaciones a nivel intra-específico (Larrinaga 2004). Entre estos estudios a nivel intra-específico también encontramos diversidad de resultados, desde casos de selección negativa del tamaño de fruto (Herrera 1988, Wheelwright 1985, Avery et al. 1993) a selección positiva (Piper 1986, Hedge et al. 1991a, Sallabanks 1993, Wheelwright 1993, Herrera et al. 1994, Alcántara et al. 1997, Parciak 2002). Se han publicado también estudios que no han encontrado una relación clara entre el tamaño de fruto y la selección por las aves frugívoras (Jordano 1987b, Foster 1990, Jordano 1995, García et al. 2001). Esta gran variabilidad se podría explicar, por una parte, por la relación del tamaño del ave, en especial de su comisura bucal, con el tamaño del fruto de la especie estudiada en cada caso (Herrera 1984, Jordano 1987a, Wheelwright, 1993 Rey et al. 1997, Alcántara y Rey 2003) y por otra, por la relación beneficio-coste que resulta del consumo de un tamaño de fruto determinado (Hedge et al. 1991a, White y Stiles 1991, Avery et al. 1993, Rey y Gutiérrez 1997, Larrinaga 2004).

El tamaño del fruto dentro de la misma especie no es uniforme (Mazer y Wheelwright 1993, Jordano 1995a) y esa variación en el tamaño puede ser debida a cambios de tamaño equivalentes en los distintos componentes o a diferencias relativas en la distribución de recursos entre éstos. Los frutos dispersados por vertebrados están formados generalmente por la pulpa y la semilla, que, a su vez, consta de testa, embrión y endosperma (Van der Pijl 1972). Los patrones intra-específicos de variación de tamaño de fruto han sido poco estudiados. Las explicaciones para los patrones de variación intra-específicos del tamaño van desde las propiedades de la expansión mecánica, hasta la herencia de patrones de desarrollo compartidos en especies relacionadas filogenéticamente (Mazer y Wheelwright 1993). Edwards (2005) ha propuesto que los patrones de relación de las variables de tamaño de los frutos son especie-específicos, lo que podría deberse a la historia filogenética (Mazer y Wheelwright 1993), así como a la selección de características de los frutos que facilitan la dispersión y en consecuencia aumentan la probabilidad de

supervivencia de la plántula (Janzen 1970, Wills et al. 1997). Por otro lado, los estudios sobre el papel del tamaño de fruto en los sistemas de endozoocoria se han centrado típicamente en las presiones selectivas ejercidas sobre su media, sin tener en cuenta su variabilidad o la forma de su distribución a escala intra-individual. En este trabajo, abordo la variación del tamaño de fruto y las posibles presiones selectivas por medio del estudio de su curva de distribución.

En la mayor parte de los estudios citados, las hipótesis sobre selección de tamaños se han contrastado con estudios observacionales o experimentos de campo en poblaciones naturales, o bien en experimentos de aviario con frutos artificiales (Larrinaga 2004 y referencias ahí citadas). Son muy escasos los experimentos realizados en aviario a nivel intra-específico y con frutos naturales (pero ver Wheelwright 1985, Mc Pherson 1988, Avery et al. 1993, Rey y Gutiérrez 1997, Stanley et al. 2002). Los experimentos de laboratorio permiten reducir las interferencias causadas por otras variables que pueden enmascarar los procesos de selección de determinados caracteres de los frutos por parte de los frugívoros (presencia de otras especies de aves y plantas, tamaños de cosecha, accesibilidad de los frutos, etc.), aunque es obvio que en muchos casos sus resultados pueden no ser generalizables.

Los experimentos de preferencias con aves frugívoras en cautividad cubren un variado rango de pruebas e hipótesis (sobre preferencias de colores, formas, composición, tamaño, etc.) pero se presentan mucho más limitados en cuanto al análisis del origen de la preferencia (innata o aprendida), ya que esto obliga a realizar experimentos con aves salvajes (con experiencia) y criadas en cautividad (sin experiencia) (por ejemplo, Willson y Comet 1993, Siitari et al. 1999, Honkavaara et al. 2000). Esta cuestión continúa en debate sobre las bases del comportamiento de alimentación de los animales y presenta implicaciones importantes en la trascendencia evolutiva de los rasgos de las partes implicadas en las interacciones mutualistas entre plantas y frugívoros.

Para estudiar el efecto del tamaño en la selección de fruto por parte de las aves frugívoras que lo consumen, el espino blanco (*Crataegus monogyna*, Rosaceae) es una especie adecuada, ya que el 90% del consumo de sus frutos lo lleva a cabo un reducido número de especies del género *Turdus*) de características muy similares y que pueden considerarse funcionalmente

equivalentes (Larrinaga 1997, Zamora 2000). Este gremio de frugívoros se mantiene relativamente constante en el espacio y en el tiempo mientras dura el periodo de fructificación en esta especie (Snow y Snow 1988, Fuentes 1992, Guitián y Fuentes 1992, Guitián et al. 2000) y depende en gran medida de los frutos durante los meses de otoño y comienzo del invierno (Snow y Snow 1988, Guitián et al. 2000). Por otro lado, el fruto del espino blanco puede permanecer varios meses en el árbol si no es consumido (Fuentes 1992), lo que facilita el estudio de la evolución temporal de la interacción entre las plantas y los frugívoros.

El espino blanco es una rosácea leñosa y espinosa con porte de arbusto erecto que puede llegar a árbol de hasta 10 m de altura. Los ejemplares más comunes en las poblaciones del noroeste de la Península miden entre 2 y 5 m. Su distribución natural comprende la mayor parte de Europa, al sur de los 50° N, así como el norte de África y el oeste de Asia (Lang 1987). En el sur de Europa, el espino blanco presenta una sola floración que comienza a finales de abril y dura aproximadamente un mes (Guitián et al. 1992), sin embargo, en regiones más septentrionales puede presentar dos floraciones, una de finales de mayo a mediados de junio y otra entre mediados de noviembre y el comienzo del mes de febrero (Lang 1987). Los frutos maduran durante el verano, con un máximo desde mediados de septiembre hasta mediados de octubre, dependiendo del año (Fuentes 1992, Guitián y Fuentes 1992). Durante este periodo los frutos son consumidos por varias especies de aves (Guitián y Fuentes 1992) y, en mucha menor medida, por mamíferos. Herrera (1989) ha encontrado restos de frutos y semillas de espino en heces de carnívoros de la Sierra de Cazorla, pero en un análisis similar llevado a cabo en la comarca de estudio durante dos años (Bermejo 1995), apenas se encontraron estos frutos en la dieta de los carnívoros más frecuentes en la comarca (zorros, ginetas, garduñas y tejones). Entre las aves consumidoras de estos frutos destacan el mirlo común (*Turdus merula*) y el zorzal alirrojo (*Turdus iliacus*), seguidos del zorzal común (*Turdus philomelos*) y del zorzal real (*Turdus pilaris*). Estos espinales mantienen una elevada disponibilidad de frutos carnosos a partir de la segunda mitad del verano. La mayoría de las especies que producen este tipo de frutos son plantas de etapas tempranas de la sucesión que precisan de lugares abiertos para establecerse

(ver Fenner 1983, Lee et al. 1991, Fuentes 1992). La abundancia de frutos carnosos que llega a alcanzarse en estos medios de la parte noroccidental ibérica, es similar a la descrita para los ecosistemas de matorral mediterráneo más productivos (Fuentes 1992, Herrera 1984, Jordano 1984) y oscila entre los 100.000 y los 800.000 frutos/ha, variando fundamentalmente en función de la densidad del espinal y del tamaño de las plantas (Fuentes 1992). Asociada a esta abundancia de frutos carnosos, destaca la abundancia otoñal de aves frugívoras, entre las que destacan las especies ya citadas de *Turdus*, las currucas (género *Sylvia*) y los petirrojos (*Erithacus rubecula*).

El género *Turdus* es ideal para el estudio de los patrones de selección de frutos de plantas silvestres en el ámbito europeo, ya que se trata de uno de los grupos más frugívoros entre nuestras aves. Todas las especies del género *Turdus* han sido citadas como frugívoras en mayor o menor medida (Cramp, 1988) y son de mayor tamaño que la mayoría de las especies europeas que se alimentan de frutos. Esto implica que pueden consumir frutos que son demasiado grandes para muchas otras aves de menor tamaño, de tal manera que presentan una gran relevancia para la dispersión de plantas productoras de frutos carnosos de tamaño medio (Gutián et al. 2000). Estos sistemas simples, en los que las interacciones se producen entre pocas especies, sobre todo cuando éstas son funcionalmente equivalentes (Larrinaga 1997, Zamora 2000, Gutián et al. 2000), facilitan el estudio de las relaciones y la interpretación de los resultados.

El mirlo común es uno de los túrdidos más frecuentes de Europa. Tiene una longitud de 23 a 25 cm y un peso en torno a 100 g (Cramp 1988). Las poblaciones nidificantes ibéricas se ven enriquecidas por efectivos del norte del continente que invernán al suroeste de sus áreas de cría (Santos 1982). Durante la invernada ocupa hábitats muy variados, desde terrenos arbolados a campo abierto con alguna protección, capturando en el suelo artrópodos y lombrices y, en árboles y arbustos, una gran variedad de frutos silvestres y cultivados. Durante el periodo comprendido entre julio y febrero y, muy especialmente entre septiembre y diciembre, el mirlo común se comporta en muchas zonas como un ave prácticamente frugívora (Fuentes 1992).

El zorzal alirrojo es el más pequeño de los zorzales europeos, con una longitud en torno a 21 cm y un peso aproximado de 70 g (Cramp 1988). Se distribuye por el norte de Europa, entre Escandinavia y Siberia y se comporta como un migrador total, de tal forma que todas las aves abandonan sus áreas de nidificación para invernar al sur del continente. La dimensión de sus irrupciones migratorias es muy variable (tanto en fechas como en efectivos) en función de la climatología continental, a partir del comienzo de sus movimientos, y de la disponibilidad de alimento (Ashmole 1962, Santos 1982). Durante la cría ocupa abedulares y bosques mixtos, con frecuencia cerca de zonas húmedas, mientras que durante la invernada son más frecuentes en terrenos descubiertos o de matorral (Cramp 1988). En el noroeste de la Península, los hábitats más frecuentados son los grandes pastizales, los espinales y los bosques de acebo (Gutián et al. 2000). La alimentación otoñal e invernal puede tener un componente mayoritario de frutos silvestres y cultivados, destacando, en la comarca del Bierzo, los frutos de espino, los de cornejo (*Cornus sanguinea*) y los de madroño (*Arbutus unedo*) (Fuentes 1992) y en las montañas Cantábricas, los frutos de acebo (*Ilex aquifolium*) y de serbal (*Sorbus aucuparia*) (Gutián et al. 2000).

En el presente trabajo pretendo definir el papel de los dispersantes sobre el tamaño del fruto, en una especie productora de frutos carnosos (*Crataegus monogyna*), teniendo en cuenta determinados aspectos que han sido, en general, obviados, como son, la selección sobre la variabilidad intra-individual, la posible no linealidad de las curvas de preferencia, la longitud y el diámetro de fruto como dos rasgos que podrían estar sometidos a presiones selectivas diferentes y la existencia de hipótesis alternativas, descritas en detalle más adelante, que se refieren a la variabilidad ambiental (climatológica y edáfica) y a las relaciones del tamaño del fruto con el tamaño de la semilla.

En primer lugar, analizo las preferencias de tamaño de fruto por *Turdus merula* y si estas preferencias, medidas en cautividad, son innatas o aprendidas (Capítulo 1). En segundo lugar, describo exhaustivamente la selección fenotípica ejercida por las aves frugívoras sobre el tamaño medio de fruto y sobre su variabilidad intra-individual en las plantas madre, así como la selección fenotípica ejercida sobre el tamaño de las semillas, considerando las semillas como

individuos (Capítulo 2). En tercer lugar, analizo la variación temporal a una escala regional para discriminar con mayor facilidad el papel de las presiones ejercidas por los dispersantes y por las variables climáticas y edáficas en las mismas poblaciones e individuos, eliminando así el efecto de la distancia genética entre ellas (Capítulo 3). Posteriormente, el análisis de las variaciones espaciales a mayor escala, entre el norte de Escocia y el centro de España, me permite determinar el papel de la latitud y de las presiones selectivas ejercidas por los dispersantes sobre el tamaño de fruto y de semilla, dado que a esta escala las variables estudiadas presentan un amplio rango de variación que facilita la detección de efectos relevantes (Capítulo 4). Finalmente, estudio la importancia del tamaño del fruto y de la semilla en el éxito reproductivo de las semillas individuales y de la planta madre, a través del estudio de las etapas post-dispersivas: la supervivencia a la depredación, la germinación, y el crecimiento de las plántulas (Capítulo 5).

Referencias

- Alcántara, J., Rey, P., Valera, F., Sánchez-Lafuente, A., & Gutiérrez, J. (1997). Habitat alteration and plant intra-specific competition for seed dispersers. An example with *Olea europaea* var. *sylvestris*. *Oikos*, 79, 291-300.
- Alcántara, J., & Rey, P. (2003). Conflicting selection pressures on seed size: Evolutionary ecology of fruit size in a bird-dispersed tree, *Olea europaea*. *Journal of Evolutionary Biology*, 16, 1168-1176.
- Ashmole, M. (1962). The migration of European thrushes: A comparative study based on ringing recoveries. *Ibis*, 104, 314-346.
- Avery, M. L., Goocher, K. J., & Cone, M. A. (1993). Handling efficiency and berry size preferences of Cedar Waxwings. *The Wilson Bulletin*, 105, 604-611.
- Baker, H. G. (1972). Seed weight in relation to environmental conditions in California. *Ecology*, 53, 997-1010.
- Bermejo, T. (1995). *Consumo de frutos y dispersión de semillas por mamíferos carnívoros durante el otoño en dos localidades del noroeste de España*. Tesis de Licenciatura. Universidade de Santiago de Compostela.
- Brodie, E. D., Moore, A. J., & Janzen, F. J. (1995). Visualizing and quantifying natural selection. *Trends in Ecology & Evolution*, 10, 313-318.

Cornelissen, J. (1999). A triangular relationship between leaf size and seed size among woody species: Allometry, ontogeny, ecology and taxonomy. *Oecologia*, 118, 248-255.

Cramp, S. (1988). The Birds of the Western Palearctic. Handbook of Birds in Europe, the Middle East and Africa. Oxford University Press. Oxford-New York.

Edwards, W. (2005). Within-and between-species patterns of allocation to pulp and seed in vertebrate dispersed plants. *Oikos*, 110, 109-114.

Eriksson, O. (1999). Seed size variation and its effect on germination and seedling performance in the clonal herb *Convallaria majalis*. *Acta Oecologica*, 20, 61-66.

Eriksson, O., & Ehrlén, J. (1998). Secondary metabolites in fleshy fruits: Are adaptive explanations needed? *The American Naturalist*, 152, 905-907.

Fenner, M. (1983). Relationships between seed weight, ash content and seedling growth in twenty-four species of Compositae. *New Phytologist*, 95, 697-706.

Foster, M. S. (1990). Factors influencing bird foraging preferences among conspecific fruit trees. *The Condor*, 92, 844-854.

Fuentes, M. (1992). *Relaciones entre pájaros y frutos en espinales del noroeste de España*. Tesis Doctoral. Universidade de Santiago.

Fuentes, M. (1994). Diets of fruit-eating birds: What are the causes of interspecific differences? *Oecologia*, 97, 134-142.

García, D., Zamora, R., Gómez, J. M., Jordano, P., & Hódar, J. A. (2000). Geographical variation in seed production, predation and abortion in *Juniperus communis* throughout its range in Europe. *Journal of Ecology*, 88, 436-446.

García, D., Zamora, R., Gómez, J. M., & Hódar, J. A. (2001). Frugivory at *Juniperus communis* depends more on population characteristics than on individual attributes. *Journal of Ecology*, 89, 639-647.

Gutián, J. & Fuentes, M. (1992). Reproductive biology of *Crataegus monogyna* in northwestern Spain. *Acta Oecologica*, 13, 31-11.

Gutián, J., Sánchez, J., & Gutián, P. (1992). Niveles de fructificación en *Crataegus monogyna* Jacq., *Prunus mahaleb* L. y *Prunus spinosa* L. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 50, 239-245.

Gutián, J., Gutián, P., Munilla, I., Gutián, J., Bermejo, T., Larrinaga, A.R., Navarro, L., López, B. (2000). *Zorzales, espinos y serbales: Un estudio sobre el consumo de frutos silvestres de las aves migratorias en la costa occidental europea*. Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela.

Hammond, D., & Brown, V. (1995). Seed size of woody plants in relation to disturbance, dispersal, soil type in wet neotropical forests. *Ecology*, 76, 2544-2561.

Hegde, S., Ganeshaiah, K., & Shaanker, R. U. (1991a). Fruit preference criteria by avian frugivores: Their implications for the evolution of clutch size in *Solanum pubescens*. *Oikos*, 60, 20-26.

Hedge, S., Shaanker, R., & Ganeshaiah, K. (1991b). Evolution of seed size in the bird-dispersed tree *Santalum album* L.: A trade off between seedling establishment and dispersal efficiency. *Evolutionary Trends in Plants*, 5, 131-135.

Henery, M. L., & Westoby, M. (2001). Seed mass and seed nutrient content as predictors of seed output variation between species. *Oikos*, 92, 479-490.

Herrera, C. M. (1984). A study of avian frugivores, bird-dispersed plants, and their interaction in Mediterranean scrublands. *Ecological Monographs*, 54, 2-23.

Herrera, C. M. (1988). The fruiting ecology of *Osyris quadripartita*: Individual variation and evolutionary potential. *Ecology*, 69, 233-249.

Herrera, C. M. (1989). Frugivory and seed dispersal by carnivorous mammals, and associated fruit characteristics, in undisturbed Mediterranean habitats. *Oikos*, 55, 250-262.

Herrera, C. M. (2002a). Seed dispersal by vertebrates. (pp. 185–208). In: Herrera, C. M. y Pellmyr, O. (eds.). *Plant–animal interactions: an evolutionary approach*. Blackwell Publishing Ltd. Oxford.

Herrera, C. M. (2002b). Correlated evolution of fruit and leaf size in bird-dispersed plants: Species-level variance in fruit traits explained a bit further? *Oikos*, 97, 426-432.

Herrera, C. M., Jordano, P., Lopez-Soria, L., & Amat, J. A. (1994). Recruitment of a mast-fruiting, bird-dispersed tree: Bridging frugivore activity and seedling establishment. *Ecological Monographs*, 64, 315-344.

Honkavaara, J., Siitari, H., & Viitala, J. (2004). Fruit colour preferences of redwings (*Turdus iliacus*): Experiments with hand-raised juveniles and wild-caught adults. *Ethology*, 110, 445-457.

Howe, H. (1986). Seed dispersal by fruit-eating birds and mammals (pp 123-189). In: Murray D.R. (ed.). *Seed Dispersal*. Academic Press. New York.

Howe, H., Schupp, E., & Westley, L. (1985). Early consequences of seed dispersal for a neotropical tree (*Virola surinamensis*). *Ecology*, 66, 781-791.

Izhaki, I. (2002). The role of fruit traits in determining fruit removal in east Mediterranean ecosystems. In Levey, D., Silva, W., & Galetti, M. (eds.) *Seed*

Dispersal and Frugivory: Ecology, Evolution, and Conservation. CAB International, Wallingford.

Janzen, D. H. (1970). Herbivores and the number of tree species in tropical forests. *The American Naturalist*, 104, 501-528.

Janzen, D., Miller, G., Hackforth-Jones, J., Pond, C., Hooper, K., & Janos, D. (1976). Two Costa Rican bat-generated seed shadows of *Andira inermis* (Leguminosae). *Ecology*, 57, 1068-1075.

Jordano, P. (1984). Seed weight variation and differential avian dispersal in blackberries *Rubus ulmifolius*. *Oikos*, 43, 149-153.

Jordano, P. (1987a). Frugivory, external morphology and digestive system in Mediterranean sylviid warblers *Sylvia* spp. *Ibis*, 129, 175-189.

Jordano, P. (1987b). Avian fruit removal: Effects of fruit variation, crop size, and insect damage. *Ecology*, 68, 1711-1723.

Jordano, P. (1995a). Frugivore-mediated selection on fruit and seed size: Birds and St. Lucie's cherry, *Prunus mahaleb*. *Ecology*, 76, 2627-2639.

Jordano, P. (1995b). Angiosperm fleshy fruits and seed dispersers: A comparative analysis of adaptation and constraints in plant-animal interactions. *American Naturalist*, 145, 163-191.

Jordano, P. (2000). Fruits and frugivory (pp 105-156) In Fenner, M. (ed.) *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities, Second edition*. CAB International Publishing. Wallingford.

Lang, D. (1987). *The Complete Book of British Berries*. Threshold Books, Ltd, London.

Larrinaga, A. R. (1997). *Comportamento fruxívoro do xénero Turdus en sistemas de ornitocoria*. Tesis de Licenciatura, Universidade de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela.

Larrinaga, A. R. (2004). *Factores que afectan a la selección de fruto por parte de aves frugívoras del género Turdus*. Tesis de Doctorado. Servizo de Publicacións e Intercambio Científico. Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela.

Lee, W. G., Grubb, P. J., & Wilson, J. B. (1991). Patterns of resource allocation in fleshy fruits of nine European tall-shrub species. *Oikos*, 6, 307-315.

Mazer, S. J., & Wheelwright, N. T. (1993). Fruit size and shape: Allometry at different taxonomic levels in bird-dispersed plants. *Evolutionary Ecology*, 7, 556-575.

- McPherson, J. (1988). Preferences of cedar waxwings in the laboratory for fruit species, colour and size: A comparison with field observations. *Animal Behaviour*, 36, 961-969.
- Moegenburg, S. M. (1996). *Sabal palmetto* seed size: Causes of variation, choices of predators, and consequences for seedlings. *Oecologia*, 106, 539-543.
- Moles, A., & Westoby, M. (2003). Latitude, seed predation and seed mass. *Journal of Biogeography*, 30, 105-128.
- Parciak, W. (2002). Seed size, number, and habitat of a fleshy-fruited plant: Consequences for seedling establishment. *Ecology*, 83, 794-808.
- Piper, J. K. (1986). Seasonality of fruit characters and seed removal by birds. *Oikos*, 46, 303-310.
- Primack, R. (1987). Relationships among flowers, fruits, and seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 409-430.
- Rey, P. J., & Gutiérrez, J. E. (1997). Elección de fruto y conducta de alimentación de aves frugívoras en olivares y acebuchares: Una estrategia óptima basada en la razón beneficio/tiempo de manipulación. *Ardeola*, 44, 27-39.
- Rodriguez-Gironés, M., Sandsten, H., & Santamaría, L. (2003). Asymmetric competition and the evolution of propagule size. *Ecology*, 91, 554-562.
- Sallabanks, R. (1992). Fruit fate, frugivory, and fruit characteristics: A study of the Hawthorn, *Crataegus monogyna* (Rosaceae). *Oecologia*, 91, 296-304.
- Sallabanks, R. (1993). Hierarchical mechanisms of fruit selection by an avian frugivore. *Ecology*, 74, 1326-1336.
- Santos, T. (1982). *Migración e invernada de zorzales y mirlos (género Turdus) en la Península Ibérica*. Universidad Complutense, Madrid.
- Schlichting, C. D., & Pigliucci, M. (1998). *Phenotypic evolution: A reaction norm perspective*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Schupp, E. W. (1993). Quantity, quality and the effectiveness of seed dispersal by animals. *Plant Ecology*, 107, 15-29.
- Siitari, H., Honkavaara, J., & Viitala, J. (1999). Ultraviolet reflection of berries attracts foraging birds. A laboratory study with redwings (*Turdus iliacus*) and bilberries (*Vaccinium myrtillus*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 266, 2125-2129.
- Snow, B., & Snow, D. (1988). *Birds and Berries*. T & AD Poyser, Calton.

Stanley, M. C., Smallwood, E., & Lill, A. (2002). The response of captive silvereyes (*Zosterops lateralis*) to the colour and size of fruit. *Australian Journal of Zoology*, 50, 205-213.

Tewksbury, J. J. (2002). Fruits, frugivores and the evolutionary arms race. *New Phytologist*, 156, 137-139.

Van der Pijl, L. (1982). *Principles of dispersal in higher plants* Springer Berlin, Heidelberg, New York.

Wheelwright, N. T. (1985). Fruit-size, gape width, and the diets of fruit-eating birds. *Ecology*, 66, 808-818.

Wheelwright, N. T. (1993). Fruit size in a tropical tree species: Variation, preference by birds, and heritability. *Plant Ecology*, 107, 163-174.

White, D. W., & Stiles, E. W. (1991). Fruit harvesting by American Robins: Influence of fruit size. *The Wilson Bulletin*, 103, 690-692.

Wills, C., Condit, R., Foster, R. B., & Hubbell, S. P. (1997). Strong density-and diversity-related effects help to maintain tree species diversity in a neotropical forest. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, 1252-1257.

Willson, M. F., & Comet, T. C. A. (1993). Food choices by northwestern crows: Experiments with captive, free-ranging and hand-raised birds. *The Condor*, 95, 596-615.

Zamora, R. (2000). Functional equivalence in plant-animal interactions: Ecological and evolutionary consequences. *Oikos*, 88, 442-447.



**CAPÍTULO 1. FRUIT SIZE PREFERENCES IN WILD
AND NAÏVE BLACKBIRDS (*Turdus merula*) FEEDING
ON HAWTHORN FRUITS (*Crataegus monogyna*).**

"THE AUK" IN PRESS 2010

Abstract

Frugivorous birds are expected to maximize pulp ingestion, causing them to have a preference for large fruits. Experience and learning may play a role in fruit size choices, and bird species may also have innate preferences. I investigated Hawthorn (*Crataegus monogyna*) fruit size preferences in wild and naïve Blackbirds (*Turdus merula*). The preference patterns of wild and naïve birds were similar although greater differences were found among size classes in the former. When presented with a similar number of fruits per size class, blackbirds preferred large fruits. However, when the same fruit weight per size class was offered, blackbirds reduced overall fruit consumption, and preferences for large fruits disappeared. The results suggest that blackbirds behave as energy intake maximizers when feeding on hawthorn fruits and that they are driven, to some extent, by innate preferences for fruit size. Admittedly this approach is limited in that it is difficult to extrapolate the findings of aviary experiments to the behavior of birds in the field.

1. Introduction

Foraging decisions made by frugivorous animals have important ecological outcomes in that they determine the number, quality and spatial pattern of dispersed seeds, which affect survival and growth rates during the early stages of plant demography (Willson and Traveset 2000 and references therein). In particular, a preference for some fruit and seed traits could affect fruit selection in the field, thus resulting in phenotypic selection, due to the relationship between certain fruit and seed traits and the fitness of the plant (Jordano 2000). Although the link between fruit preferences and phenotypic selection on plant traits is dependent upon many factors (fruit availability, predation risk, spatial heterogeneity, to name a few), it is essential to determine whether or not there is a consistent preference for specific trait values to understand the nature of this relationship. The preference of wild individuals held under aviary conditions might simply be the result of their habituation to fruit size availability in the field at the moment of capture, which may vary in space and time. If preferences are innate, however, they would be expected to be far more constant, entailing implications for plant fitness and phenotypic selection.

Thus, the key to understanding the nature of the phenotypic selection exerted by fruit size preferences of birds on natural plant populations is to determine whether these preferences are innate or acquired during an individual's ontogeny. Although this question has been addressed in a number of different taxa by comparing foraging decisions and efficiency between wild, experienced animals and naïve conspecifics (Desrochers 1992, Honkavaara et al. 2004, Vanderhoff and Eason 2007, Vanderhoff and Eason 2008), the extent to which an animal's foraging behavior is learned or innate has not yet been clearly established in any species. Inheritance and learning may influence an animal's foraging behavior, and the relative importance of the two components may depend on external factors, such as environmental variability (Muñoz and Bonal 2008). Moreover, morphological differences between naïve and wild birds could be the cause of differences in foraging behavior when both groups of birds belong to different age classes, as is often the case. For example, bill and gape size have been shown to affect fruit size selection (Wheelwright 1985, Jordano 1987), and both morphological features often differ between young and adult birds.

According to optimal foraging theory, animals are expected to adjust their foraging strategies to the abundance and quality of available prey items (Stephens and Krebs 1986). Hence, birds are expected to maximize their net energy intake when feeding on fruits (Jordano 1995, Rey et al. 1997). In experiments where birds were offered different prey items simultaneously, and when manipulation times were shorter than the interval between trials, frugivorous birds preferred fruits with a higher energy yield, as predicted by the discrete marginal value theorem (Charnov 1976). Thus, from the perspective of the disperser, pulp mass would be the driving force behind fruit preference and selection. Since larger fruits offer a higher absolute and relative pulp mass (Martínez et al. 2007) and given the constraint imposed by gape width (Jordano 2000 and references therein), frugivorous birds are expected to prefer the largest fruits that they can handle.

From the plant's perspective, however, the outcome of fruit selection is based on the number and size of dispersed seeds, which might not be related directly to pulp dry mass (Lee et al. 1991). For a foraging bird, eating one large

fruit with a net yield of $2 \times x$ would be equivalent to eating two small fruits with a net yield of x each. From the point of view of the plant, however, the two alternatives lead to completely different outcomes. Hence, an analysis of fruit size preference requires careful consideration of both the number and size of the fruits consumed, while the total weight of consumed fruits can help us identify the benefits that such decisions will afford birds. Analyzing the number of fruits consumed will give us information about the consequences of fruit preferences for the plant.

I tested for differences in size preferences for hawthorn fruit between wild experienced and naïve blackbirds (*Turdus merula*) and the effect of fruit abundance on their preferences. I addressed the following hypotheses: (1) all birds will prefer the largest fruits able to be eaten; (2) given the opportunity, birds seek to maximize pulp consumption which results in individuals preferring larger fruits even when offered smaller but more numerous fruits in experimental situations; (3) preference patterns of wild birds are to some extent inherited, which would manifest itself as similar preferences by naïve and adult. To our knowledge, this is the first study that analyzes the fruit size preferences of frugivorous birds using natural fruits, for the purpose of differentiating between the net effect of fruit size and fruit number and focusing on the differences between wild experienced and naïve animals.

2. Methods

Hawthorn (*Crataegus monogyna*, Rosaceae) is a shrub or small tree with fleshy fruits that contains a single seed. It is distributed over most of Europe, northern Africa and western Asia, and it has been introduced into North America as well (Lang 1987). In Europe, hawthorn fruits are mostly consumed by Blackbirds (*Turdus merula*), Redwings (*Turdus iliacus*), and to a lesser extent by Song Thrushes (*Turdus philomelos*) and Fieldfares (*Turdus pilaris*) (Snow and Snow 1988, Guitián et al. 2000). These birds swallow the fruit whole and most of the seeds are passed through the gut, although a small percentage is regurgitated (personal observation).

Experiments were performed at the Institute of Avian Research “Vogelwarte Helgoland”, Germany, from September to December 2005. Hand-

raised (naïve) and wild blackbirds were used in the experiments. The naïve birds were blackbird chicks taken from their nests on the island of Helgoland in the spring of 2005 and then raised in captivity. These specimens had never consumed fruits or observed other birds while they consumed fruits. The wild birds were adult blackbirds that had been mist netted during the first week of November 2005 in Wilhelmshaven, Niedersachsen, Germany, where hawthorn is very common. The birds were weighed and the following morphological traits measured: tarsometatarsus (*tarsus* herein), beak, and beak-skull lengths, beak width and gape size (Appendix I). The birds were maintained in individual cages (50 x 40 x 40 cm) in indoor aviaries under constant photoperiod, temperature and humidity. All birds underwent a minimum 15-day acclimatization period to adapt to aviary conditions. During the first two months hand-raised birds were fed worms, after which commercial pellets were used. Wild birds were fed commercial pellets from the start. In terms of age, naïve birds were less than nine months old and wild birds were chosen to be at least second-year adults. Hawthorn fruits ripen in the middle of September at the latitude where the study was carried out (Gutián et al. 2000). Hence wild birds had had previous experience with Hawthorn fruits for at least two fruiting seasons.

I used fruits collected weekly in the area around Wilhelmshaven. To ensure ripeness, fruits were collected after they had already started to be consumed under natural conditions. Fruit diameters were measured with a 0.01 mm precision caliper. The diameter was used as the response variable since birds eat fruits in a longitudinal fashion (Herrera 1992, Mazer and Wheelwright 1993). Thus the size constraints imposed by gape width were determined by fruit diameter rather than length. Moreover, a strong correlation was found between fruit diameter and both fruit length and seed size (Sallabanks 1992, Martínez et al. 2007), while a higher correlation was observed with pulp weight than with fruit length (M. Sobral unpubl. data).

I considered three fruit size classes, all of which were able to be consumed by the birds, based on diameter: small (6.5-8 mm), medium (8-9.5 mm) and large (9.5-11 mm). The scarcity of larger fruits in the area precluded the inclusion of a larger size class. The selection of these classes was based on the data representative of hawthorn berry diameters at this latitude (data from 1,250

fruits from 50 trees of two populations in northern Europe at latitude similar to that of the study area).

The procedure commonly used to assess the preference of birds for different types of diet items involves measurement of the amount eaten by individuals that were offered a constant amount of each type of food simultaneously. However, when testing fruit size preferences, the amount of food is determined by the pulp content of the fruits. Hence, offering the same amount of food of different size classes is tantamount to offering a different number of fruits per size class. On the other hand, offering a different number of fruits to achieve equal food weights may lead to a biased test of preference, because some frugivorous birds select the larger fruit displays (Davidar and Morton 1986, Sallabanks 1993, Laska and Stiles 1994, Ortiz-Pulido and Rico-Gray 2000). In this case, frugivorous birds could be selecting fruits based on their abundance rather than their size. In an attempt to tease apart the effect of fruit size and amount of food, I performed preference tests using two alternative experimental displays. One offered a constant weight of fruits per size class (*same-weight display*) and the other, a constant number of fruits per size class (*same-number display*) (Fig. 1).

I performed two replicates with 16 naïve and 10 wild blackbirds. Each replicate comprised two consecutive trials, one per experimental display. In each trial, three porcelain cups were randomly placed in each cage, one for each fruit size class. Eight birds in the naïve group and five of the wild specimens initially received 5 g of fruits from each size class (*same-weight display*). The remaining eight naïve birds and five wild birds received 20 fruits from each size class (*same-number display*). After one hour I assessed the number and weight of the fruits consumed from each size class. In the second trial of each replicate I changed the experimental display offered to each bird. Trials were performed at one week intervals so as not to alter the behavior of the birds. Therefore the experiment took four weeks.

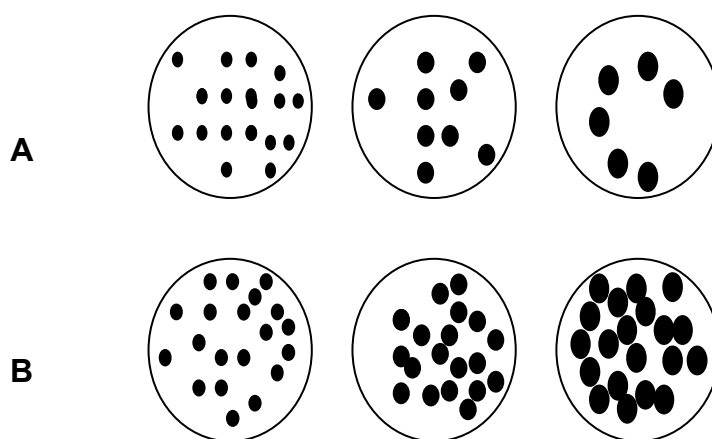
2.1. Statistical analysis

I analyzed the differences in morphological characteristics of naïve and wild birds by means of a one-way ANOVA for each measured trait. I then performed a principal component analysis (PCA) on all measured bill variables to extract the first component (the only one with an eigenvalue greater than unity) as a new variable to provide a univariate description of overall beak size. I checked for non-linearity by visually inspecting bivariate plots of bill measures before performing the PCA and, later, by inspecting bivariate plots of PC1 vs PC2. This new variable, which I called *beak size*, was also compared between adult and naïve birds in the same way as the other measurements. Preference data were analyzed by a repeated measures ANOVA, which included the experimental display (*same-weight* display or *same-number* display), fruit size (small, medium or large) and replicate number (first or second) as fixed within subject factors and bird experience (naïve or wild) as fixed between subjects factors. *Beak size* was used as a covariate to ensure that the results of fruit size preferences were independent of this trait. A preliminary analysis showed that the order of the experimental displays had no effect. Therefore, for the sake of clarity, this variable was omitted from the analysis. The presence of an upper threshold of fruit size preference was assessed by polynomial contrasts (coefficients for the linear contrast: -1, 0, 1; for the quadratic contrast: 1, -2, 1), which provide information about the shape of the relationship between the response variable and the factor. When the quadratic contrast is positive, the relationship between them is concave up, while a negative quadratic contrast indicates a concave down relationship. Analyses were carried out for trials in which at least one fruit was eaten.

The response variables considered were as follows: number of fruits consumed, weight of fruits consumed, and weight of pulp consumed. I estimated the pulp weight consumed using the reduced major axis (RMA) regression of pulp weight on fruit weight from 600 fruits belonging to four hawthorn populations distributed over the latitudinal range of the species in Europe. I used RMA instead of ordinary least squares (OLS) regression because least squares regression assumes that independent variables are fixed and measured without error, resulting in the negative bias of the estimated slopes when x is a random

variable as is the case of fruit weight (McArdle 1988, Quinn and Keough 2002). The results of the analysis on preferences for pulp weight were found to be equivalent to those for fruit weight, and therefore I present only the latter. All analyses were performed using SPSS 15.0 statistical software.

Figure 1. Representation of both experimental displays that birds were exposed to in the experiment. Three porcelain cups were offered, each one presenting fruits of one of the three size classes used in the experiment; large, medium and small fruits. A: *Same-weight display* (5 g per fruit size class), B: *Same-number display* (20 fruits per fruit size class).



3. Results

3.1. Morphological characteristics of wild and naïve birds

Body weight before the experiment was 10.7 g greater in wild birds than in naïve birds ($F_{1,24} = 8.67$, $p < 0.01$, one-way ANOVA). Similarly, tarsi of wild birds averaged 2.5 mm longer ($F_{1,24} = 6.48$, $p < 0.05$ one way ANOVA). Nevertheless, beak-related morphological traits which might constrain the fruit size selection exerted by birds, namely beak-skull length, beak length, beak width and gape size, did not differ between wild and naïve birds (respectively: $F_{1,24} = 3.54$, 1.54, 1.06 and 2.61, all $p > 0.05$, one-way ANOVA). Not surprisingly,

therefore, factor 1 (“beak size”) from PCA did not differ between wild and naïve birds ($F_{1,24} = 0.34$, $p > 0.05$).

3.2. *Fruit size preferences*

Fruit size preferences differed depending on the experimental display that birds were exposed to, as shown by the significant fruit size-display interaction (Table 1). When birds were offered the same number of fruits per size class (*same-number* display), they always consumed more fruits of the largest class (simple effects; adults, $F_{4,17} = 32.91$, $p < 0.05$; naïve, $F_{4,17} = 12.41$, $p < 0.05$), but for the *same-weight* display, the small class was consumed in great numbers (simple effects; adults, $F_{4,17} = 6.11$, $p < 0.05$; naïve, $F_{4,17} = 3.61$, $p < 0.05$; Fig. 2). In contrast, the weight of fruit consumed was consistently higher for the largest class (simple effects; same number, $F_{4,17} = 39.15$, $p < 0.05$; same weight, $F_{4,17} = 9.54$, $p < 0.05$), although it exhibited a steeper slope for the *same-number display* (Fig. 3). The size preference found when birds were exposed to the *same-number display* resulted in a higher total weight of fruit consumed. In contrast, when they were exposed to the *same-weight display*, in which the size selection pattern was weaker, they consumed a lower total weight (Fig. 3). I did not find any evidence to suggest the existence of an upper size threshold for the size range used in the experiment, as demonstrated by the quadratic but concave trend of fruit size preferences (Table 2). Similarly, beak size explained a significant proportion of overall fruit consumption (beak size effect, Table 1) but showed no relation to fruit size preference (non-significant beak size x fruit size interaction; Table 1). Overall, wild birds consumed more fruits and a higher total fruit weight than naïve specimens (Table 1; Figs. 2 and 3). Nonetheless, the two showed similar preference patterns, although differences among fruits size classes were usually greater in adult birds (Table 1).

Table 1. Results of the analysis for both consumed number and consumed weight of fruits on fruit size preference by wild and naïve blackbirds under two different experimental displays. Interactions of the replicates and the beak-size with other effects were not significant and have been omitted for the sake of simplicity (see text for additional details).

Effect	df	Consumed number		Consumed weight	
		F	p	F	p
Fruit size	2, 40	41.18	<0.001	44.63	<0.001
Display	1, 20	0.50	0.454	49.93	<0.001
Experience	1, 20	47.03	<0.001	14.02	<0.001
Beak size	1, 20	0.014	0.907	6.49	0.019
Replicate	1, 20	70.71	<0.001	7.75	0.011
Experience * Display	1, 20	0.43	0.520	4.26	0.052
Fruit size * Display	2, 40	30.00	<0.001	26.36	<0.001
Fruit size * Experience	2, 40	11.72	<0.001	0.97	0.386
Fruit size * Display * Experience	2, 40	12.54	<0.001	1.13	0.332

Table 2. Polynomial contrast on fruit size preference by wild and naïve blackbirds under two different experimental displays. Results show that the number of consumed fruits relates to fruit size through a quadratic curve, while the weight of consumed fruits increases linearly with size. Displays differ only in the linear slope, while differences between naïve and adult birds also affect the curvature of the relation.

Response variable	Effect	Polynomial contrast	df	F	p
Consumed number	Fruit size	Linear	1, 20	54.32	<0.001
		Quadratic	1, 20	26.04	<0.001
	Fruit size* Display	Linear	1, 20	46.65	<0.001
		Quadratic	1, 20	0.83	0.374
	Fruit size * Experience	Linear	1, 20	12.96	0.002
		Quadratic	1, 20	10.29	0.004
	Fruit size* Display* Experience	Linear	1, 20	17.35	<0.001
		Quadratic	1, 20	4.11	0.056
Consumed weight	Fruit size	Linear	1, 20	128.71	<0.001
		Quadratic	1, 20	0.002	0.961
	Fruit size* Display	Linear	1, 20	57.20	<0.001
		Quadratic	1, 20	0.00	0.966

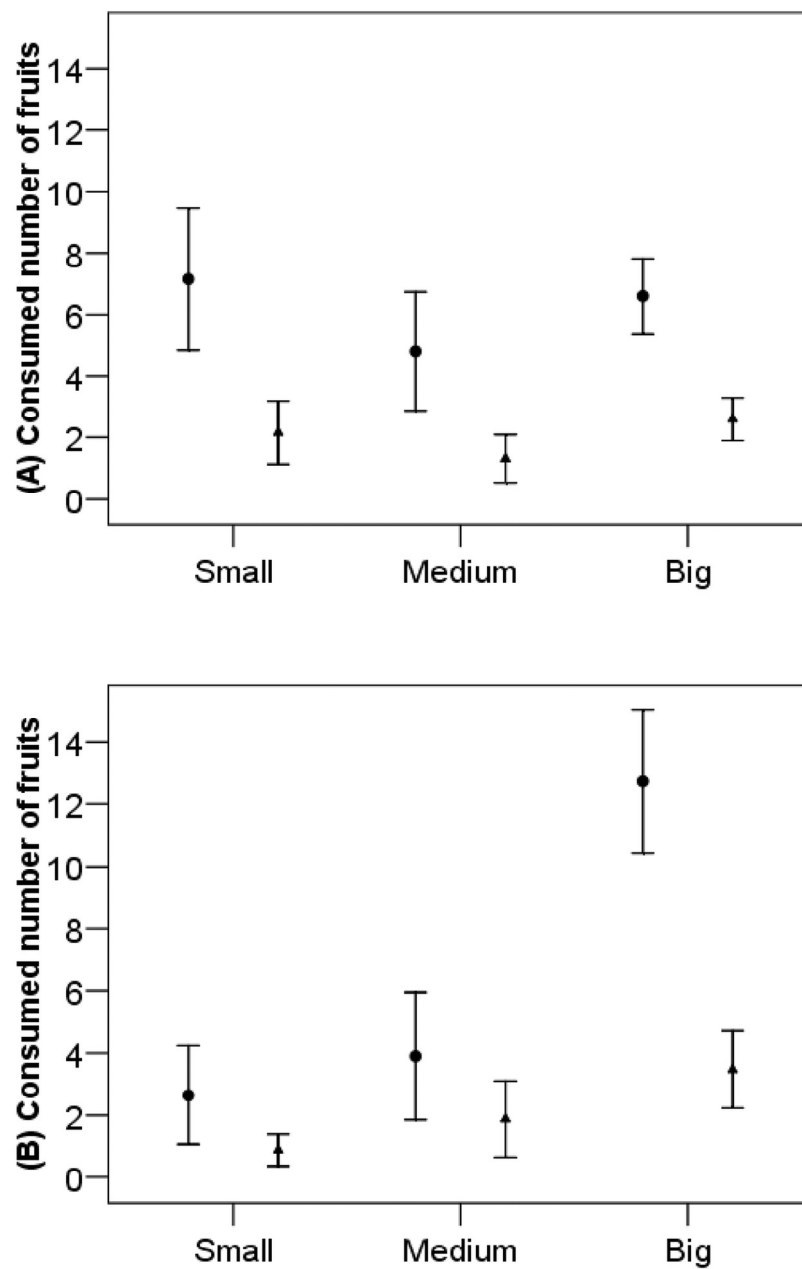


Figure 2. Estimated number of fruits consumed from different size classes by wild blackbirds (circles) and naïve blackbirds (triangles), when exposed to different experimental displays: A: *Same-weight display*, B: *Same-number display*. Bars indicate the standard error.

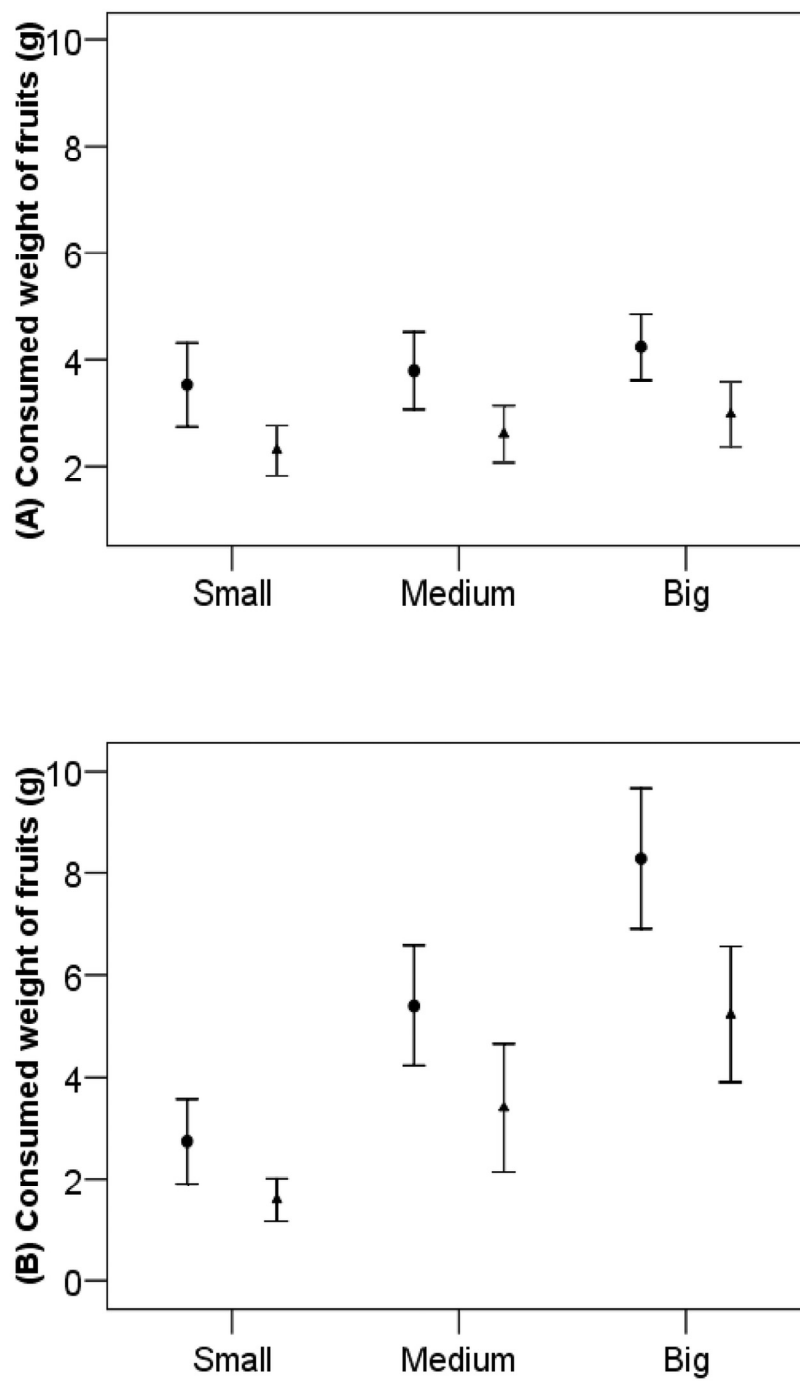


Figure 3. Estimated weight of fruits consumed from different size classes by wild blackbirds (circles) and naïve blackbirds (triangles) when exposed to different experimental displays: A: *Same-weight display*, B: *Same-number display*. Bars indicate the standard error.

4. Discussion

Wild adult birds consumed greater amounts of fruit than naïve young birds, a result that may have been due to greater foraging efficiency by older birds. It may also be attributed to the fact that wild adult birds have a higher physiological need for energy, because of weight differences. In fact, birds with larger beaks, which are also heavier ($r = 0.665$, $n = 26$, $p < 0.001$ between weight and bill size), consumed more fruits.

I found two broad size preference patterns in wild birds, i.e. a positive selection of fruit size and the effect of fruit abundance, which attenuates the preference for big fruits. Both seem to have an inherited component, given that I have detected them in naïve birds. Moreover, these patterns do not seem to undergo major changes during ontogeny, since our naïve birds made the same foraging decisions as wild birds. However, I cannot rule out the possibility that fruit size preferences may have been determined by maternal effects such as early experiences unrelated to fruits, as has been shown for color preferences (Huber-Eicher 2004).

All experimental blackbirds preferred larger fruits when choosing between different size classes with same number of fruits. This is not surprising, because from the bird's point of view, it would be more efficient to ingest small numbers of large fruits than a greater number of smaller fruits for at least two reasons. First, less energy would be expended in choosing and handling the fruits, thus increasing their net energy intake. Secondly, they would reduce the cost of ingesting high volumes of non-digestible seeds, as pulp to seed ratio increases with fruit size (Martínez et al. 2007). A positive selection for fruit size has been previously reported for hawthorn and different species of *Turdus* (Sallabanks 1993, Martínez et al. 2007) and it is also common in other seed dispersal systems (Foster 1990, Hegde et al. 1991, Wheelwright 1985, 1993). Due to the strong correlation between fruit size and seed size in this species (Sallabanks 1992, Martínez et al. 2007) a preference for large fruits implies an indirect preference for large seeds. Nevertheless, it is difficult to extrapolate the effect on plants from aviary experiments, where birds are previously fed *ad libitum* and are not forced to cope with predation risk and other environmental sources of variability. The many factors that affect fruit size preference in the field, which do

not exist in aviary experiments, may have a greater impact on fruit choice in the field than general fruit preferences.

Previous field data for hawthorn suggested that fruit selection might be limited by an upper threshold imposed by gape size (Larrinaga 2004), as has already been documented for other systems (Alcántara and Rey 2003). I did not, however, find any evidence of an upper limit for fruit selection in this study, although this could be due to a lack of large fruits in the experimental sample. Hawthorn fruits can grow to over 12 mm in diameter (M. Sobral unpubl. data) but the rarity of such fruits in the study area limited us to a maximum fruit size of 11 mm. An upper limit to ingestion may have existed, but only a small fraction of fruits would have been affected.

Regardless of the experimental display and the number of fruits of each size that was consumed, the birds always consumed more fruit weight (and pulp weight) of large fruits. Hence, according to the amount of food consumed, blackbirds consistently preferred large fruits, which would suggest that pulp consumption is the driving force behind fruit choice. However, when preference was measured as the number of fruits consumed, birds responded differently to the two alternative experimental displays. So, when exposed to a similar weight per size class the clear preference of birds for large fruits disappeared, as compared to the same-number display. In this case, birds ate a higher number of small fruits, consumed less pulp, and reduced their total energy intake. Thus, while birds seemed to prefer large fruits, the overall fruit intake rate and the strength of this preference varied depending on the apparent abundance of the resource. This may be attributed to context dependent fruit preferences. In fact, some modifications to the optimal foraging theory predict a gradual change in selection as food densities change, depending on the relative abundance of different food types (e.g. Hubbard et al. 1982). When presented with a choice between two or more food types, birds tended to eat more of the type that they were more familiar with or which was most commonly available over the course of the experiment (Coppinger 1969). On the one hand, possible differences in the perception of food abundance or availability could result in changes in preference patterns. Sallabanks (1993) demonstrated in the field that American Robins (*Turdus migratorius*) that fed on *Crataegus monogyna* chose to feed in trees with

the greatest abundance of fruit, but once on the tree, birds chose the largest fruits. On the other hand, if the cost of seed processing in the gut is dependent on a number/size trade-off, the total number of fruits to be ingested could be limited. This would be the case, for example, if birds regurgitated the largest seeds but not the smallest. However, I did not find any regurgitated seeds in the cages throughout the experiment.

A complete change of strategy could be inferred from the preference shift that I found here when I changed the relative abundance of size classes. When feeding on the fruits of a particular species, birds must cope with fruit size variability. This variability involves costs to the foraging bird, in terms of time and energy, because it increases assessment and decision time, and may result in higher predation risk. These costs would lead to constraints on optimal foraging decisions (Jordano 1990, Fuentes 1995, Manzur and Courtney 1984) and might cause a trade-off in animal foraging strategies ranging from highly selective foraging behaviour (always consume the largest fruits) to non selective behaviour (choose abundance over all other factors). Given similar searching and handling times, large fruits would be preferred, as I found when I exposed birds to a constant number of fruits. With this strategy, birds maximize energy intake by eating large fruits. However, if handling or searching times vary with fruit size, the relative yield of fruits could also differ (e.g. Avery et al. 1993). It could be more profitable for birds to minimize search time by the selection of fruits that are nearby and abundant rather than search for less common, but large fruits. In fact, the field behaviour of *Turdus* that feed on hawthorn suggests that this species minimizes predation risk, by moving away from fruit bearing trees between short feeding bouts and by feeding in flocks (Snow 1988, Guitián et al. 1994, Larrinaga 1998, Guitián et al. 2000). This behaviour could underlie the preference attenuation that I detected when offering relatively more small fruits.

Had blackbirds compensated for the higher net energy intake of large fruits by eating a smaller number, I would have found a positive preference for fruit size when measured in the weight of consumed fruits but not when measured in fruit number. However, I found that birds not only ingested more pulp weight by eating larger fruits, but that they also ate a higher number of large fruits. Being hawthorn a one-seeded species, blackbirds will then probably favour

trees with big fruits by (1) dispersing more seeds as compared to small seeded trees and (2) by dispersing their biggest seeds, which may be more likely to germinate faster and escape post-dispersal predation (see for example, Stanton 1984, Wulff 1986, Zhang and Maun 1990, Eriksson 1999).

Pulp mass maximization seems to be the driving force behind birds' fruit size selection, leading to a preference for larger fruits. This pattern is innate, rather than acquired, but it is also mediated by other fruit selection criteria, such as fruit size availability. However, further field experiments are still needed to clarify to what extent behavior of naïve captive blackbirds mimics that of naïve chicks in the wild. Their results will be invaluable to fully understand the preference behavior of frugivorous birds and to confirm the accumulated results on captive (present study) and wild animals (Sallabanks 1993, Larrinaga 2004, Martínez et al. 2007).

5. References

- Alcántara, J., & Rey, P. (2003). Conflicting selection pressures on seed size: Evolutionary ecology of fruit size in a bird-dispersed tree, *Olea europaea*. *Journal of Evolutionary Biology*, 16, 1168-1176.
- Avery, M. L., Goocher, K. J., & Cone, M. A. (1993). Handling efficiency and berry size preferences of Cedar Waxwings. *The Wilson Bulletin*, 105, 604-611.
- Charnov, E. L. (1976). Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical Population Biology*, 9, 129-136.
- Coppinger, R. P. (1969). The effect of experience and novelty on avian feeding behavior with reference to the evolution of warning coloration in butterflies part I: Reactions of wild-caught adult blue jays to novel insects. *Behaviour*, 35, 45-60.
- Davidar, P., & Morton, E. S. (1986). The relationship between fruit crop sizes and fruit removal rates by birds. *Ecology*, 67, 262-265.
- Desrochers, A. (1992). Age and foraging success in European Blackbirds: Variation between and within individuals. *Animal Behaviour*, 43, 885-894.
- Eriksson, O. (1999). Seed size variation and its effect on germination and seedling performance in the clonal herb *Convallaria majalis*. *Acta Oecologica*, 20, 61-66.
- Foster, M. S. (1990). Factors influencing bird foraging preferences among conspecific fruit trees. *The Condor*, 92, 844-854.

- Fuentes, M. (1995). The effect of unripe fruits on ripe fruit removal by birds in *Pistacia terebinthus*: Flag or handicap? *Oecologia*, 101, 55-58.
- Gutián, J., Munilla, I., & Guitián, P. (1994). Influencia de los depredadores de aves en el consumo de frutos de *Crataegus monogyna* por zorzales y mirlos. *Ardeola*, 41, 45-54.
- Gutián, J., Guitián, P., Munilla, I., Guitián, J., Bermejo, T., Larrinaga, A.R., Navarro, L., López, B. (2000). *Zorzales, espinos y serbales: Un estudio sobre el consumo de frutos silvestres de las aves migratorias en la costa occidental europea*. Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela.
- Hegde, S., Ganeshaiah, K., & Shaanker, R. U. (1991). Fruit preference criteria by avian frugivores: Their implications for the evolution of clutch size in *Solanum pubescens*. *Oikos*, 60, 20-26.
- Herrera, C. M. (1992). Interspecific variation in fruit shape: Allometry, phylogeny, and adaptation to dispersal agents. *Ecology*, 73, 1832-1841.
- Honkavaara, J., Siitari, H., & Viitala, J. (2004). Fruit colour preferences of redwings (*Turdus iliacus*): Experiments with hand-raised juveniles and wild-caught adults. *Ethology*, 110, 445-457.
- Hubbard, S., Cook, R., Glover, J., & Greenwood, J. (1982). Apostatic selection as an optimal foraging strategy. *Journal of Animal Ecology*, 51, 625-633.
- Huber-Eicher, B. (2004). The effect of early colour preference and of a colour exposing procedure on the choice of nest colours in laying hens. *Applied Animal Behaviour Science*, 86, 63-76.
- Jordano, P. (1987). Frugivory, external morphology and digestive system in Mediterranean sylviid warblers *Sylvia* spp. *Ibis*, 129, 175-189.
- Jordano, P. (1990). Utilización de los frutos de *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) por el Verderón Común (*Carduelis chloris*), (pp. 145-153). In: Arias, L., Recuerda, P. & Redondo, T. (eds.). *Actas I Congreso Nacional de Etología*. Monte de Piedad y Caja de Ahorros de Córdoba, Córdoba.
- Jordano, P. (1995). Frugivore-mediated selection on fruit and seed size: Birds and St. Lucie's cherry, *Prunus mahaleb*. *Ecology*, 76, 2627-2639.
- Jordano, P. (2000). Fruits and frugivory (pp 125-165) In Fenner, M. (ed.). *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*, Second edition. CAB International Publishing. Wallingford.

- Lang, D. (1987). *The Complete Book of British Berries*. Threshold Books, Ltd, London.
- Larrinaga, A. R. (1998). Behaviour of Redwing (*Turdus iliacus* L.) during feeding on berries of Hawthorn (*Crataegus monogyna*). *Etología*, 5, 9-18.
- Larrinaga, A. R. (2004). *Factores que afectan a la selección de fruto por parte de aves frugívoras del género Turdus*. Tesis de Doctorado. Servizo de Publicacións e Intercambio Científico. Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela.
- Laska, M. S., & Stiles, E. W. (1994). Effects of fruit crop size on intensity of fruit removal in *Viburnum prunifolium* (Caprifoliaceae). *Oikos*, 69, 199-202.
- Lee, W. G., Grubb, P. J., & Wilson, J. B. (1991). Patterns of resource allocation in fleshy fruits of nine European tall-shrub species. *Oikos*, 6, 307-315.
- Manzur, M. I., & Courtney, S. P. (1984). Influence of insect damage in fruits of Hawthorn on bird foraging and seed dispersal. *Oikos*, 43, 265-270.
- Martínez, I., García, D., & Obeso, J. R. (2007). Allometric allocation in fruit and seed packaging conditions the conflict among selective pressures on seed size. *Evolutionary Ecology*, 21, 517-533.
- Mazer, S. J., & Wheelwright, N. T. (1993). Fruit size and shape: Allometry at different taxonomic levels in bird-dispersed plants. *Evolutionary Ecology*, 7, 556-575.
- McArdle, B. (1988). The structural relation: Regression in biology. *Canadian Journal of Zoology*, 66, 2329-2339.
- Muñoz, A., & Bonal, R. (2008). Seed choice by rodents: Learning or inheritance? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 62, 913-922.
- Ortiz-Pulido, R., & Rico-Gray, V. (2000). The effect of spatio-temporal variation in understanding the fruit crop size hypothesis. *Oikos*, 91, 523-527.
- Quinn, G. P., & Keough, M. J. (2002). *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Rey, P., Gutiérrez, J., Alcántara, J., & Valera, F. (1997). Fruit size in wild olives: Implications for avian seed dispersal. *Functional Ecology*, 11, 611-618.
- Sallabanks, R. (1992). Fruit fate, frugivory, and fruit characteristics: A study of the Hawthorn, *Crataegus monogyna* (Rosaceae). *Oecologia*, 91, 296-304.
- Sallabanks, R. (1993). Hierarchical mechanisms of fruit selection by an avian frugivore. *Ecology*, 74, 1326-1336.
- Snow, D. W. (1988). *A study of blackbirds*. British Museum, London.

- Snow, B., & Snow, D. (1988). *Birds and Berries*. T & AD Poyser, Calton.
- Stanton, M. L. (1984). Seed variation in wild radish: Effect of seed size on components of seedling and adult fitness. *Ecology*, 65, 1105-1112.
- Stephens, D. W., & Krebs, J. R. (1986). *Foraging theory*. Princeton University Press, New Jersey.
- Vanderhoff, E. N., & Eason, P. K. (2007). Disparity between adult and juvenile American Robins *Turdus migratorius* foraging for ground invertebrates and cherry fruits. *Ethology*, 113, 1212-1218.
- Vanderhoff, E. N., & Eason, P. K. (2008). Comparisons between juvenile and adult American Robins foraging for mulberry fruit. *Wilson Journal of Ornithology*, 120, 209-213.
- Wheelwright, N. T. (1985). Fruit-size, gape width, and the diets of fruit-eating birds. *Ecology*, 66, 808-818.
- Wheelwright, N. T. (1993). Fruit size in a tropical tree species: Variation, preference by birds, and heritability. *Plant Ecology*, 107, 163-174.
- Willson, M. F., & Traveset, A. (2000). The ecology of seed dispersal (pp. 61-86). In Fenner, M. (ed.). *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*, Second edition. CAB International Publishing. Wallingford.
- Wulff, R. D. (1986). Seed size variation in *Desmodium paniculatum*: II. Effects on seedling growth and physiological performance. *The Journal of Ecology*, 74, 99-114.
- Zhang, J., & Maun, M. (1990). Seed size variation and its effects on seedling growth in *Agropyron psammophilum*. *Botanical Gazette*, 151, 106-113.

Appendix I. Morphological characteristics of birds used in the study. There are two different measurements of beak length; “beak length” is the distance from the tip of the upper mandible to the end of the horny culmen of the forehead, while “beak-skull length” is sum of beak-length and skull length. ID is the identity number for each bird.

Bird ID	Experience	Sex	Weight (g)	Tarsus length (mm)	Beak-skull length (mm)	Beak length (mm)	Beak width (mm)	Gape width (mm)
110	Naïve	Female	80.2	28.6	51.4	26.9	5.2	14.2
112			87.7	34.0	53.2	27.7	5.9	14.8
113			97.6	34.3	54.2	29.0	5.7	14.8
117			80.3	31.5	50.9	26.7	5.4	13.4
118			97.4	33.6	51.9	26.9	5.6	14.2
120			101.5	33.1	52.3	28.5	5.3	14.0
138			77.4	27.8	48.9	25.0	5.1	13.9
109		Male	81.3	27.5	50.8	25.4	4.3	13.6
114			85.7	34.2	53.2	28.1	5.1	13.9
119			85.5	34.3	52.3	28.2	5.6	13.8
121			64.7	25.7	49.8	26.8	4.9	13.9
122			71.4	27.6	48.4	25.9	4.4	13.9
123			72.6	27.8	48.9	26.1	4.3	13.8
137			81.7	31.2	51.2	26.9	5.5	14.3
139			78.1	30.9	51.9	27.0	5.2	14.9
802	Wild	Female	91.0	32.4	52.7	27.8	5.4	13.6
804			79.8	33.9	52.6	27.1	4.9	13.4
811			90.2	34.5	52.7	27.3	5.2	12.7
813			98.8	33.0	52.5	27.4	5.0	13.7
140		Male	85.1	33.0	51.9	27.0	5.3	12.8
805			104.7	34.3	54.8	29.3	4.6	14.1
806			96.2	33.0	52.2	26.7	4.8	13.5
807			100.4	34.9	53.1	28.9	5.1	14.0
808			86.7	33.8	50.3	26.8	4.6	13.6
809			90.3	31.2	50.9	26.3	5.1	14.4
814			99.3	33.7	52.9	27.7	5.3	13.8



CAPÍTULO 2. DO SEED-DISPERSING BIRDS
EXERT SELECTION ON OPTIMAL PLANT TRAIT
COMBINATIONS? CORRELATED PHENOTYPIC
SELECTION ON THE FRUIT AND SEED SIZE OF
HAWTHORN (*Crataegus monogyna*).

"EVOLUTIONARY ECOLOGY" IN THIRD REVIEW

Abstract

Seed-dispersing birds can be expected to optimize their energy intake through fruit selection and hence exert a positive selection on fruit pulp content, that is to say, favoring big fruits with small seeds. On the other hand they may select both, average fruit size and its variation. I addressed this issue by analyzing the phenotypic selection exerted by the dispersers of *Crataegus monogyna* on the fruit and seed size of this species. Fruit and seed size were analyzed at two ontogenic plant stages: the initial size of seeds (and their fruits) as future individuals and the mean size of fruits and seeds produced by adult plants. Fruit diameter and its within-individual variation are the actual targets of selection for maternal fruit traits, negatively affecting relative fitness, although total selection acts only on mean fruit size. For individual seeds, size selection is positive and directed at fruit diameter and seed length, while the remaining traits are subject to indirect selection. Birds exerted a correlational selection favoring big fruits with small seeds. Nevertheless the evolutionary consequences of this selection are expected to be limited by several factors. For example, the positive correlation between fruit and seed sizes, the existence of counteracting selective pressures exerted by other mutualistic or antagonist interactions and temporal or spatial changes in the environmental conditions that may alter the selective forces and even the optimum phenotype in each situation.

1. Introduction

The mutualistic interaction of fleshy-fruit producing plants with their dispersers is expected to have evolutionary consequences for both interactors and especially for the plants (e.g. Jordano and Herrera 1995). Among the fruit characters susceptible to selection, fruit size has been cited as one of the most selectable because it is less phylogenetically constrained (Jordano 1995). In fact, fruit size is one of the traits most commonly reported to be selected by birds (Jordano 1987, Herrera 1988, Foster 1990, Wheelwright 1993, Alcántara et al. 1997) and the only fruit character for which high levels of heritability have been cited (Wheelwright 1993). Moreover, the close relationship between fruit and seed size (Sallabanks 1992, Herrera et al. 1994) gives it a potentially important effect on plant reproductive success, since the selective forces acting on fruit size

are likely to translate into seed size by indirect selection and this trait is known to have strong effects on plant fitness (Moles and Westoby 2004). Fruit size selection by seed dispersers and its evolutionary consequences have, however, been approached from a simplistic point of view, which implicitly assumes that the selective pressures exerted act directionally on the mean values of different size traits. In sharp contrast with this approach, recent data suggest that this evolutionary interaction has multiple complexities.

On the one hand, phenotypic selection studies have commonly neglected the complexity of this phenomenon, focusing on direct linear selection and disregarding non-linear selection, both quadratic and correlational. Many of the regressions of fitness on one or two phenotypic traits reported in the literature (Endler 1986, Kingsolver et al. 2001) may be misinformative at best and misleading at worst if selection does not act directly on these traits but instead targets particular combinations of traits (Kruuk and Garant 2007). If birds optimize their energy intake through fruit selection, I would expect selection to favor an increase in fruit pulp content, by increasing fruit size and reducing seed size, which may be limited by the correlation between both traits and could result in correlational selection. Moreover, there are limits to the selection exerted on fruit size. Particularly, the relationship between fruit size and gape width determines whether or not the fruit can be swallowed (Jordano 1987). Even if birds were to choose bigger fruits, there may be some fruits that are too large for them to swallow, resulting in a negative quadratic selection on fruit size (Rey et al. 1997, Alcántara and Rey 2003).

On the other hand, phenotypic selection may act on every moment of the distribution of traits and not just on the average. Hence, selection may be exerted on the mean, on the variation and even on the bias or kurtosis of the distributions (Sallabanks and Courtney 1993, Gavrillets and Hastings 1994, Herrera 2009), as well as on the spatial and temporal organization of this variability within plants (Herrera 2009). Within-plant variability of fruit and seed size, in particular, could be selected in specific situations. The composition of the avian disperser guild and the relative abundance of each species influence the kind of phenotypic selection exerted on fruit and seed size. In fact, phenotypic selection curves are determined by the weighted average of the different phenotypic selection curves of the various disperser species. A high degree of diversity in terms of the size of

the disperser species may produce a phenotypic selection curve with a low slope and a high variance. Even though large species may disperse a greater number of seeds, a situation in which trees compete for the dispersers may imply that trees with a higher variability in fruit size may have a higher fitness. These situations of disperser scarcity may likely occur several times during a lifetime in long-living species. The coexistence of small and big fruit sizes may act as a kind of reproductive assurance for these critical situations. Nevertheless, in systems where most of the seed dispersal is exerted by functionally equivalent species, like the one presented here, I would expect the selection of plants with smaller within-individual variability in fruit and seed traits, since it may reduce assessing time and predation risk. The assumption underlying this expectation, that intra-specific beak size variability is not wide enough to favor high intra-individual fruit size variability, seems to hold true for blackbirds (*Turdus merula*), as beak size does not affect fruit size selection in this species (Sobral et al. in press).

Finally, plants express two different seed size characters during their lifetimes: the size of the seeds from which they germinate and of the fruits which contain them (initial seed and fruit size) and the average size of the fruits and seeds they produce as adults (maternal seed and fruit size) (Mojonnier 1998). The selective pressures acting on both characters should be measured, since the relative fitness of one seed is not necessarily the same as that of its average maternal phenotype (Jordano 1995). In fact, by using different criteria at each decision level, birds may select fruits in a hierarchical way, exerting different selection pressures on plants and on individual seeds (Sallabanks 1993).

I studied the phenotypic selection exerted by dispersers on fruit size traits of common hawthorn (*C.monogyna*) under the general hypothesis that the phenotypic selection exerted by seed-dispersing birds on fleshy fruit bearing plants follows complex patterns which include non-linear selection, selection on trait combinations and selection on both average values and their variability. By doing this I aimed at understanding the process that translates bird preferences into selective forces on the traits of plants and seeds. Specifically, I tested the following predictions: (1) that both crop size and fruit size would be positively selected at the maternal level, given that crop size is often correlated to average fruit size (Parciak 2002) and is a commonly selected character (Sallabanks

1993); (2) that trees with smaller variability of fruit and seed size would be positively selected, given that the size of hawthorn's dispersers is relatively homogeneous, and (3) that big fruits with relatively small seeds would be selected, in order to maximize net energy intake per fruit and minimize the cost of gut treatment for indigestible material, resulting in negative correlational gradients between fruit and seed size.

2. Methods

2.1. Species and study site

The study was carried out at Lago de Carucedo, León, Spain (42° 30' N, 6° 49' O), located 550 m above sea level, from October 2004 to February 2005. The trees studied here belong to a common hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq., Rosaceae) population numbering several hundred individuals and spanning about 14 ha. Hawthorn is a shrub or small tree bearing one-seeded fleshy fruits, which are slightly elongated. Its geographical distribution comprises most of Europe, northern Africa and western Asia and it is introduced in North America (Lang 1987). In the study area fruits ripen during the summer and are consumed between September and February by blackbirds (*Turdus merula*), redwings (*T. iliacus*), song thrushes (*T. philomelos*) and fieldfares (*T. pilaris*) (Gutián and Fuentes 1992), which due to their size and behavior, may be considered functionally equivalent seed dispersers. During the study period fruits were only consumed by blackbirds (71.4 % of fruits consumed) and redwings (28.6 % of fruit consumed; personal observation, 219 hours, 7.3 hours per tree, 398 consumption events).

2.2. Field procedures

I randomly chose 30 hawthorn trees. At the beginning of the fruiting season, on October 23rd 2004, I estimated the initial fruit crop, measured tree height and canopy diameter and collected 100 fruits per tree. Tree height and canopy diameter were used to assess tree volume and area under the canopies. Fruit crop was estimated by counting the total number of fruits into three 50*50*50 cm cubes and extrapolating their fruit density to the total volume of the tree. I tagged five branches per tree and counted the number of fruits to estimate

future fruit consumption. I also marked two 50 cm² quadrates on the ground under each canopy, in order to estimate the number and size of fallen fruits.

On weekly visits I counted the remaining fruits on the marked branches of each tree and gathered all the fruits found within the ground quadrates. In this area hawthorn there was no evidence of dispersal by mammals (Bermejo and Guitián 2000; personal observation), fruit predation was slow and moderate and birds were not observed to consume fruits on the ground (M. Sobral unpublished data). Sampling was continued until the fraction of remaining fruits related to the initial counts was equal to or less than 20%. When a tree fulfilled this stopping rule, another sample of 100 fruits was collected and the final standing crop was assessed using the percentage of remaining fruits on the marked branches. The last visit took place on January 24th, 2005. I measured the length and diameter of every fruit and seed with a 0.01 mm precision caliper. Fruits were kept refrigerated and measured within one week after collection. A total of 16,712 fruits and 15,258 seeds belonging to the 30 selected trees were measured. Values of traits before the episode of selection are shown in table 1.

Since birds eat fruits in a longitudinal way, it has been suggested that the size constraints imposed by gape width are determined by fruit diameter rather than length and that, as a result, birds would exert different selective pressures in the direction of diameter and length (Wheelwright 1985). Additionally, the physiological processes determining fruit length and width are different from one another (Esau 1965). Hence, I used both fruit length and diameter as descriptors of fruit size.

I estimated the number of dispersed seeds per tree as:

$$D_t = I_t - F_t - G_t ,$$

where I_t is the initial crop of tree t , F_t the final standing crop of tree t and G_t the number of fallen fruits under tree t . G_t was estimated as:

$$G_t = CA_t * \sum_{w=1}^n G_{t,w} ,$$

where $G_{t,w}$ stands for the average fallen fruit density across the quadrates for week w , n for the number of weeks the tree t was followed, and CA_t for the projected area of the canopy. The number of dispersed fruits per tree obtained (D_t) was used as the fitness component for the maternal selection analysis.

To analyze selection at the seed level (initial size estimates) I needed to estimate the size of the dispersed seeds and their fruits. The rationale to do that was to estimate the size distribution of the dispersed fruits of each tree and then rescale those distributions to the total amount of fruits produced by that individual. In this way I obtained the total number of fruits dispersed per size class. By doing this, I locally reduced the variance around class means, but the overall variance was not greatly reduced. The same approach was repeated for a sample of fruits where real measurements were known and I did not find any relevant biases on the estimated gradients after reducing the data to the mean value of its class (data not shown).

I needed to estimate the distribution of the four size variables (length and width of fruit and seed) but keeping the correlation among fruit traits. That is, if the distribution of, say, fruit length had been estimated independently of that of fruit width, the resultant estimated fruits would show no correlation between both traits. To avoid this, I estimated the distribution of the dispersed fruits for the four size variables jointly, according to the following procedure.

First, I pooled all the measured fruits (initial fruits, fallen fruits and remaining fruits) to draw a histogram with seven equal sized bins. This bin limits were used to describe the size distribution of initial, fallen and remaining fruits and were thus maintained fixed throughout all the process. The estimated distribution of the dispersed seeds and fruits would then be expressed in terms of a percentage of fruits falling in each one of these seven classes.

Second, in order to jointly estimate the size distribution of dispersed seeds and fruits I needed the tetra-dimensional size distribution of initial, fallen and remaining fruits. Thus, each fruit was coded according to its corresponding fruit and seed length and width, as $c(\text{Fruit Length class}, \text{Fruit Diameter class}, \text{Seed Length class}, \text{Seed Diameter class})$. For example, a fruit with a $c(4,5,3,4)$

code would have a fruit length from the 4th size class, a fruit diameter from the 5th five class, a seed length from the 3rd class and a seed diameter from the 4th class.

Third, I estimated the multivariate size distribution of initial fruits, fallen fruits and remaining fruits, that is, the percentage of fruits at each of these new multivariate classes, by means of the following equation:

$$D_{t,c(fl,fd,sl,sd)} = (I_{t,c(fl,fd,sl,sd)} - F_{t,c(fl,fd,sl,sd)} - CA_t * \sum_w G_{t,c(fl,fd,sl,sd),w}) / (I_{t,c(fl,fd,sl,sd)})$$

where the *c* subscripts indicate the particular multivariate class defined by the combination of classes for each of the four size variables (*fl* for fruit length class, *fd* for fruit diameter class, *sl* for seed length class and *sd* for seed diameter class).

Fourth, from the multivariate distribution of the dispersed seeds and fruits and the total initial crop of the tree I estimated the total number of dispersed fruits for each size class combination. By simply replacing the class number of each variable with the mean value of that class I estimated the dimensions of these fruits.

Hence, this procedure allowed us to estimate the final number of seeds dispersed at each size class (dispersal rate of 1) and, by subtracting dispersed seeds to initial fruits, the final number of seeds that remained undispersed (dispersal rate of 0), and hence construct a datasheet of fruits with their dispersal success and seed and fruit.

2.3. Statistical analyses

I analyzed fruit selection at two different levels, corresponding to maternal fruit size and initial size. Both analyses followed the same general methodology and in both cases the response variable was the relative dispersal rate. However, for the maternal size analysis, the relative dispersal rate was estimated from the number of dispersed seeds per tree, while for the initial size analysis (one seed one case) dispersal vs. non-dispersal of individual seeds was used for the estimation of relative dispersal rate.

By considering dispersal rates (of either the mother plant or individual seeds) as the response variable from which relative fitness is to be calculated, I am relying here on the common hypothesis that dispersed seeds are more likely to have higher fitness than undispersed seeds, due to reduced competition (especially mother and half-sibling competition), reduced density dependent effects (pathogens, parasites, post-dispersal seed predators) and colonization of suitable microsites (Howe and Smallwood 1982). However, real fitness of dispersed seeds is probably not unity, as many dispersed seeds actually fail to germinate, and that of non-dispersed seeds equals cannot be expected to be zero, because some of them could survive and finally recruit into the adult population.

All independent variables at both levels showed a normal distribution and there was no significant correlation between the average and CV of traits. For both analyses, total selection was assessed as the linear selection differential (S), the standardized coefficient of a simple regression of relative fitness on each trait (Conner and Hartl 2004). Linear (β) and non-linear (γ) selection gradients for correlated characters were assessed as the coefficients of the multiple regression of relative fitness on the traits analyzed and they were variance standardized (Lande and Arnold 1983). Quadratic selection gradients were doubled as recommended by Stinchcombe et al. (2008). Janzen and Stern (1998) suggested that, with dichotomic fitness components, a logistic regression should be used to avoid violating the normality assumption. However, the assessment of non-linear selection has not been developed for the logistic method and the slopes estimated by both methods are quite similar (Janzen and Stern 1998). Hence, I resorted to the ordinary least squares multiple regression for the estimation of selection gradients without transforming fitness to achieve normality (Lande and Arnold 1983, Stanton and Thiede 2005). Nevertheless since the response variable is non-normal, the p-values were approximated using a bootstrap method (Manly 2006). The x-values were fixed for every bootstrap sample, whereas the response variable was re-sampled from the estimated regression and the permutational distribution of the residuals. The code was programmed in language R following Davison and Hinkley (1997). In order to facilitate the interpretation of the selection gradients, I performed Spearman correlations on

the traits under selection and reported both standardized metrics and fitness surfaces as recommended by Kingsolver et al. (2001).

2.4. Selection on maternal size traits

To assess the phenotypic selection exerted on adult trees, the fitness component considered was the total number of dispersed seeds per fruit. The relative fitness of tree t was defined as the proportion of dispersed fruits of tree t relative to the mean number of dispersed fruits per tree of the population:

$$w_t = n * D_t / \sum_{i=1}^n D_i ,$$

where n is the number of trees in the population (30 in our case), D_t is the number of dispersed fruits of tree t and D_i the number of dispersed fruits of tree i . I assessed the linear selection differential (S) and the linear selection gradient (β) for fruit and seed characters and initial crop size. Linear selection gradients were assessed by means of two independent analyses: average and within-tree variability (CV) of fruit length and width and crop size were included in the former ($n = 30$ trees), while the latter comprised average and within-tree variability of seed length and width and fruit crop size ($n = 26$ trees). I performed both analyses separately and did not assess the non-linear selection gradients because of power problems owing to the reduced sample size. By including variability (CV) as a separate trait I am adhering to the variance-aware extended model of Herrera (2009), which takes into account not only the average value of traits, but also their within-individual variability. This is actually nothing more than the classical approach by Lande and Arnold (1983) with intra-individual variation included as a new trait (Herrera 2009).

2.5. Selection on initial size traits

To assess the phenotypic selection exerted on individual seeds, the fitness component considered was the dispersal success of each seed. The relative fitness of seed s was defined as the success of its dispersal event, relative to the mean dispersal success:

$$w_s = n * D_s / \sum_{i=1}^n D_i ,$$

where n is the number of seeds in the population and D_s is either 0 (for undispersed seeds) or 1 (for dispersed seeds). I included all the fruits belonging to the 30 trees, with their size being estimated as the mean value of the size class they belong to. I assessed the linear selection differential (S) and the linear (β) and non-linear (γ) selection gradients (both quadratic and correlational) for fruit and seed length and diameter for the 328,100 estimated fruits and seeds of the population. As this estimation procedure could lead to some degree of pseudo-replication, I used the actual number of fruits measured ($n = 16,702$) instead of the total number of estimated fruits when calculating the degrees of freedom for these tests.

The statistical analyses were performed with the SPSS 15.0 and Statistica 7 software.

3. Results

3.1. Selection on maternal size traits

Dispersers of hawthorn directly selected for big crops and for trees with small and homogeneous fruits (β , Table 2). However, I detected important differences between direct selection and total selection patterns (arising from the combination of both direct and indirect selection). Hence, the direct selection exerted on within-individual variation of fruit diameter did not result in total selection on this trait, due to selection on other correlated traits. On the contrary, even though average fruit length was not under direct selection, this trait was in fact selected because of indirect effects (S , Table 2).

I did not find any significant correlations between fruit crop and either fruit length and width or their variation (all $|r_s| < 0.148$, all $p > 0.05$), but trees producing bigger crops did show wider, less variable seeds (Crop size*Seed length: $r_s = 0.296$, $p > 0.05$; all remaining $|r_s| > 0.391$, all remaining $p < 0.05$).

3.2. Selection on initial size traits

The total selection coefficients (S) for the traits considered show higher values and are more similar between traits than suggested by the selection gradients (β), (Table 3).

I found a strong quadratic positive selection trend, indicating that gape width is not imposing an upper limit to fruit consumption in this range of fruit sizes. However, the existence of positive quadratic selection gradients for fruit and seed size selection in this context does not reflect a disruptive selective pressure either, but rather indicates that selection is stronger for big fruits and seeds (Fig. 1).

Birds selected combinations of characters that likely provide the greatest energy gain. The correlational selection gradients (γ) between size traits are all negative, indicating that a negative correlation between size traits was favored. In particular, although I found a direct selection for wide fruits and long seeds, strong correlational gradients indicate that birds favor big fruits with short seeds. In fact this trend towards selecting short seeds is greater as fruit size increases (Table 3, Fig.1).

I found significant correlations between all size variables measured at the individual size level (all $|r_s| > 0.211$ and < 0.676 , all $p < 0.001$).

Table 1. Descriptive statistics of the size variables measured, both at the initial size level and at the maternal size level before the episode of selection.

		n	Mean	Standard Deviation
Initial size level	Fruit diameter	2930	7.86	0.93
	Fruit length	2930	8.21	0.90
	Seed length	2276	5.22	0.77
	Seed diameter	2276	4.15	0.48
Maternal size level	Average fruit diameter	30	7.85	0.59
	Average fruit length	30	8.21	0.56
	Average seed length	26	5.20	0.56
	Average seed diameter	26	4.14	0.30
	Fruit diameter CV	30	9.11	1.42
	Fruit length CV	30	8.56	1.44
	Seed length CV	26	9.86	1.79
	Seed diameter CV	26	9.29	1.35

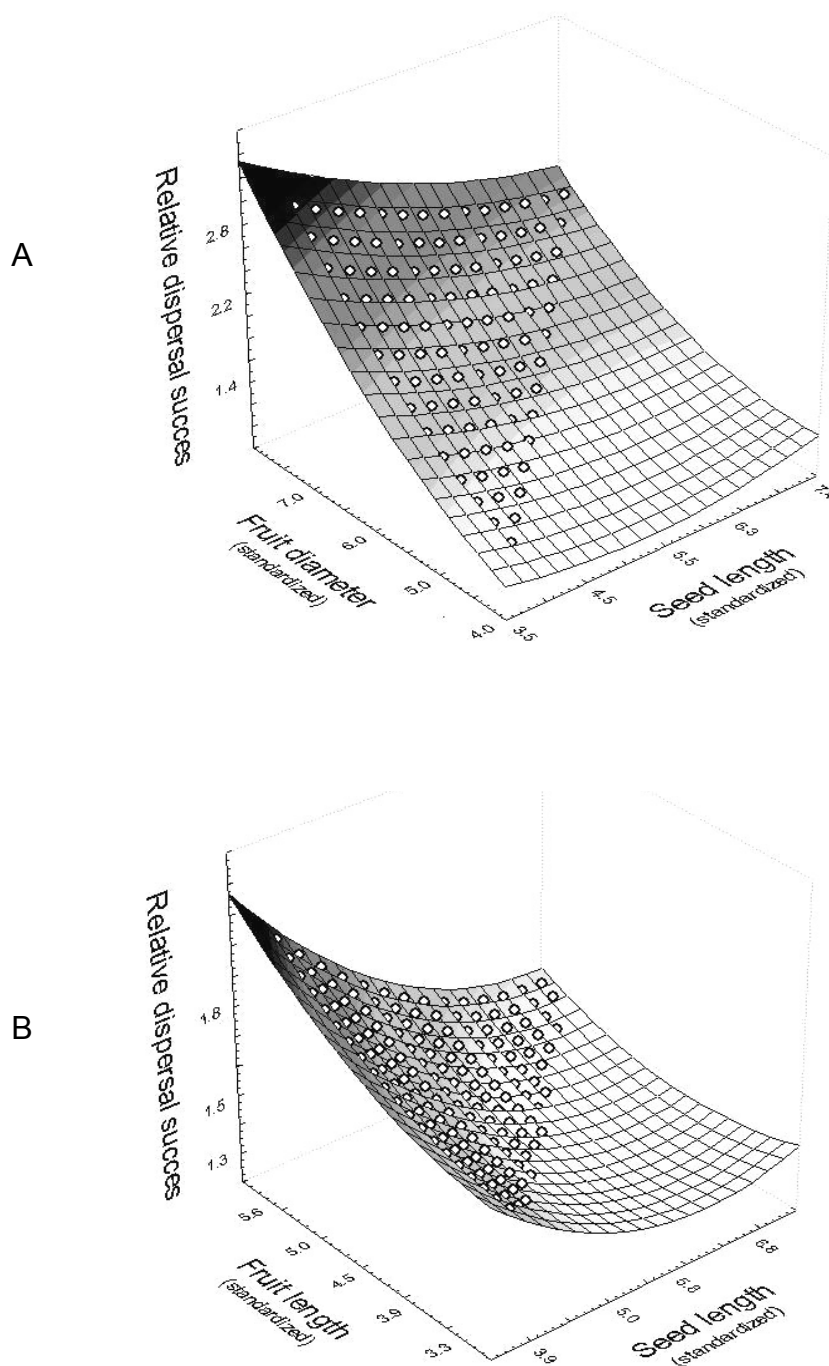
Table 2. Linear standardized selection gradients (β) and selection differentials (S) for maternal fruit size traits and maternal seed size traits. Two different multiple regression models were used to estimate selection gradients, one for fruit traits and one for seed traits. Each selection differential is estimated from an independent simple regression model.

	β	s.e.(β)	p(β)	$R^2(\beta)$	S	s.e.(S)	p(S)	$R^2(S)$
Fruit crop	0.033	0.000	0.003		0.033	0.000	0.007	0.229
Average fruit length	-0.003	0.024	0.850		-0.025	0.022	0.050	1.131
Average fruit diameter	-0.029	0.023	0.039	0.512	-0.027	0.020	0.030	0.158
Fruit length CV	0.029	1.040	0.065		-0.001	0.902	0.943	0.000
Fruit diameter CV	-0.032	1.036	0.042		-0.015	0.888	0.235	0.050
Fruit crop	0.037	0.000	0.007					
Average seed length	0.001	0.035	0.928		0.006	0.023	0.675	0.007
Average seed diameter	-0.022	0.067	0.274	0.383	0.001	0.044	0.918	0.000
Seed length CV	0.017	0.765	0.345		-0.004	0.570	0.773	0.004
Seed diameter CV	-0.024	1.256	0.172		-0.018	0.942	0.175	0.075

Table 3. Linear (β) and non-linear (γ) standardized selection gradients and total selection differentials (S) for initial size traits. Selection gradients, both linear and non-linear, come from the same multiple regression model, while each selection differential is estimated by an independent simple regression model. Non-linear gradients for single traits correspond to quadratic gradients; those for trait combinations correspond to correlational gradients. All s.e. < 0.02. $R^2 = 0.034$ and $p < 0.001$ for β model. $R^2 = 0.049$ and $p < 0.001$ for γ model. R^2 and p for S models are shown in the table. P-values were assessed using a bootstrap method (see Methods for details).

	β	γ	S	R^2 (S)	p (S)
Fruit length	0.010	0.043	0.068	0.015	<0.001
Fruit diameter	0.058	0.074	0.079	0.020	<0.001
Seed length	0.058	0.044	0.081	0.021	<0.001
Seed diameter	0.009	0.065	0.062	0.012	<0.001
Fruit diameter * Fruit length	-	-0.019	-	-	-
Fruit diameter * Seed length	-	-0.073	-	-	-
Fruit diameter * Seed diameter	-	-0.018	-	-	-
Fruit length * Seed length	-	-0.033	-	-	-
Fruit length * Seed diameter	-	-0.006	-	-	-
Seed length * Seed diameter	-	-0.033	-	-	-

Figure 1. Correlational selection surfaces for the traits analyzed at the initial size level. Note that trait scales are variance standardized. A. Fruit diameter and seed length. B. Fruit length and seed length. Pointed area in the surfaces represents the existing trait combinations for the standardized values within the study population. See text for additional details.



4. Discussion

In general, the values of phenotypic selection found in this study are low, compared to the absolute average values of selection gradients ($\beta = 0.16$ and $\gamma = 0.10$) reported by the review of Kingsolver et al. (2001). Even so I found that seed-dispersing birds exerted phenotypic selection on *Crataegus monogyna*.

The effect of this phenotypic selection on the evolutionary trends of plant populations, however, might still be limited. On the one hand, the selection exerted by birds is just one of the evolutionary forces acting on fruit and seed traits. The evolutionary effects of the action of dispersers may be influenced by counteracting selective pressures exerted by other mutualistic or antagonist interactions, for example, size related seed-predation (Leishman et al. 2000, Martínez et al. 2007). Thus, seed dispersers will play a role in the evolution of the plant species only if their activity influences the next stages in the plant life-cycle, after accounting for the rest of factors (Willson and Traveset 2000). Hence, we need to consider how the demographic processes, especially seed germination and seedling establishment, are influenced by variations in the relevant traits for the plant-frugivore interaction (Jordano 2000). On the other hand, the existence of any environmental covariance between phenotype and fitness might bias the measurements of the strength of selection (Rausher 1992, Stinchcombe et al. 2002).

Our results show that disperser foraging choices result in different kinds of phenotypic selection with regard to adult trees and seeds. In fact the average fruit diameter of adult trees is negatively selected by the dispersers and, on the contrary, fruit diameter at the individual seed level is positively selected. In other words, the chance of being dispersed is higher for seeds contained in fruits with a larger diameter but lower for seeds belonging to trees with a larger average fruit diameter.

4.1. Selection on maternal size

At the adult tree level, crop size, average fruit size and within-plant variation of fruit size are selected by birds. I did not find selection on average seed size or within-individual variation of seed size at the maternal level, although it could be masked by correlated selection on fruit size, since our analysis did not address this issue due to power limitations.

While the choice of trees with larger crops seems to be a general pattern (e.g. Sallabanks 1993, Alcántara et al. 1997, García et al. 2001), the results on fruit size are not so clear cut and vary from cases where birds favor big-fruited trees (e.g. Alcántara et al. 1997) to others where they are reported to avoid them (e.g. Herrera 1988, Rey and Gutiérrez 1997). However, the scarcer estimates of selection gradients agree with our results, pointing to a selection for trees with small fruits (Jordano 1995). In contrast, a preference for lower levels of within-plant variation has never been reported, as far as I know. This preference could be due to the ecological costs imposed by the within-individual variability on interacting animals, among them constraints on optimal foraging, time and energy costs, and increased predation risk (Herrera 2009). In *Crataegus monogyna* it could be more profitable for birds to select fruits that are nearby rather than search for large ones, thus minimizing searching times and consequently the risk of being predated upon. In fact, the field behavior of *Turdus* when feeding on hawthorn suggests it minimizes predation risk, by moving away safe cover between short feeding bouts and by feeding in flocks (Snow 1988, Guitián et al. 1994, Larrinaga 1998, Guitián et al. 2000). The selection on within-individual variability suggests that the observed levels of within plant variability may be, at least in part, the adaptive consequence of animal-mediated selection (Herrera 2009). However, other mechanisms could be maintaining variability, such as the effect of engineering and the ecological costs of minimizing variability in development (Zhang and Hill 2005) or the number of pollen donors and sibling competition effects (Bañuelos and Obeso 2003).

4.2. Selection on initial size

Again, birds seem to select fruit size through diameter rather than length. This could have important evolutionary consequences, being the factors affecting seed length and diameter different. While fruit length is determined by the

number of cells in the flower ovary at the moment of anthesis, fruit diameter seems to be related to the posterior growth of these cells (Esau 1965). The very weak or nonexistent direct selection found on fruit length is not surprising since birds eat fruits in a longitudinal way (Herrera 1992, Mazer and Wheelwright 1993). Additionally, diameter shows a higher correlation with pulp weight than length, thus being a better cue for birds to select more profitable fruits (Larrinaga 2004).

Selection on fruit and seed sizes was expected to favor big sizes with a quadratic trend, which would be negative if there was an upper limitation to fruit size, showing a convex trend. However, I found a strong quadratic selection of the opposite sign, with a concave trend. Despite the traditional association of negative quadratic gradients with stabilizing selection and positive ones with disruptive selection, the shape of the phenotypic selection surface on a character depends on whether the range of values of the measured trait comprises the optimal phenotypic value, that is, the value with the highest fitness (Conner and Hartl 2004). In this case the positive quadratic selection gradients simply reflect that differences in the dispersal success between fruits and seeds of different sizes increase with their size (Fig.1).

It has been suggested that the relationship between fruit and seed size and fruit shape may be under selection (Mazer and Wheelwright 1993, Martínez et al. 2007). Nevertheless, these studies based their conclusions on indirect clues, mostly through allometric analyses of fruit size. Other authors report that the pulp/seed ratio is an important determinant of fruit selection by frugivores (Wheelwright 1985, Hegde et al. 1991 and Avery et al.1993). But, to our knowledge, this is the first study quantifying correlated phenotypic selection on trait combinations of fruits and seeds. Birds feed on big fruits with big seeds, but among these, they select the ones with the smallest possible seeds. This combination of characters results in higher amounts of pulp ingested by the disperser, suggesting that pulp mass quantity was under selection.

This type of choice may imply that frugivores select fruits on the beak, after deciding which tree to feed on and which fruit to pick. Although Sallabanks (1993) found no evidence for this kind of behavior, there are some facts suggesting that selection on the beak might not be uncommon. On the one hand,

beak-marked fruits found on the ground are bigger than fruits from the trees or fallen fruits, and so are their seeds (unpublished data, ANOVA, $df = 2/15,831$, $p < 0.05$ for fruit and seed length and diameter). On the other hand, fruit weight provides useful information for birds to assess seed size on the beak since, for a given fruit size, fruits with bigger seeds are heavier (partial correlation controlling for fruit length; seed length vs fruit weight $r = 0.129$, $n = 895$, $p < 0.001$). We should bear in mind that correlational selection and its evolutionary consequences is limited by the mechanical, developmental and genetic processes that give rise to the correlations between traits.

The optimal for bird selection phenotype (that with the highest seed dispersal rate) in our population is the widest fruit with the shortest seed. However, the part of the selective surface representing this lowest fitness values does not correspond to existing phenotypes, which might be the result of past selection (O'Neil 1999).

This study highlights the complex nature of the selective pressures exerted on fruits and seeds by seed-dispersing animals. As a consequence, the analysis of these selective pressures should consider the possible action on different moments of the distributions (for example average and variation), the possible interactions among selection forces on different characters (by analyzing not only total selection, but also direct, indirect and correlational selection) and the shape of selection surfaces (linear and non-linear selection). These results show that the mutualistic interaction between hawthorn and its dispersers may shape, at least in part, the phenotypic characters related to fruit size in two different life stages of the plants.

5. References

- Alcántara, J., Rey, P., Valera, F., Sánchez-Lafuente, A., & Gutiérrez, J. (1997). Habitat alteration and plant intra-specific competition for seed dispersers. An example with *Olea europaea* var. *sylvestris*. *Oikos*, 79, 291-300.
- Alcántara, J., & Rey, P. (2003). Conflicting selection pressures on seed size: Evolutionary ecology of fruit size in a bird-dispersed tree, *Olea europaea*. *Journal of Evolutionary Biology*, 16, 1168-1176.
- Avery, M. L., Goocher, K. J., & Cone, M. A. (1993). Handling efficiency and berry size preferences of Cedar Waxwings. *The Wilson Bulletin*, 105, 604-611.

Bañuelos, M., & Obeso, J. (2003). Maternal provisioning, sibling rivalry and seed mass variability in the dioecious shrub *Rhamnus alpinus*. *Evolutionary Ecology*, 17, 19-31.

Bermejo, T., & Guitián, J. (2000). Fruit consumption by foxes and martens in NW Spain in autumn: A comparison of natural and agricultural areas. *Folia Zoologica-Praha*, 49, 89-92.

Conner, J. K., & Hartl, D. L. (2004). *A primer of ecological genetics* Sinauer Associates. Sunderland, MA.

Davison, A. C., & Hinkley, D. V. (1997). *Bootstrap methods and their application*. Cambridge University Press. New York.

Endler, J. A. (1986). *Natural selection in the wild*. Princeton University Press, New Jersey.

Esau, K. (1965). *Plant Anatomy*. Wiley. New York.

Foster, M. S. (1990). Factors influencing bird foraging preferences among conspecific fruit trees. *The Condor*, 92, 844-854

García, D., Zamora, R., Gómez, J. M., & Hódar, J. A. (2001). Frugivory at *Juniperus communis* depends more on population characteristics than on individual attributes. *Journal of Ecology*, 89, 639-647.

Gavrilets, S., & Hastings, A. (1994). A quantitative-genetic model for selection on developmental noise. *Evolution*, 48, 1478-1486.

Guitián, J. & Fuentes, M. (1992). Reproductive biology of *Crataegus monogyna* in northwestern Spain. *Acta Oecologica*, 13, 31-11.

Guitián, J., Munilla, I., & Guitián, P. (1994). Influencia de los depredadores de aves en el consumo de frutos de *Crataegus monogyna* por zorzaes y mirlos. *Ardeola*, 41, 45-54.

Guitián, J., Guitián, P., Munilla, I., Guitián, J., Bermejo, T., Larrinaga, A.R., Navarro, L., López, B. (2000). *Zorzaes, espinos y serbaes: Un estudio sobre el consumo de frutos silvestres de las aves migratorias en la costa occidental europea*. Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela.

Hegde, S., Ganeshaiah, K., & Shaanker, R. U. (1991). Fruit preference criteria by avian frugivores: Their implications for the evolution of clutch size in *Solanum pubescens*. *Oikos*, 60, 20-26.

Herrera, C. M. (1988). The fruiting ecology of *Osyris quadripartita*: Individual variation and evolutionary potential. *Ecology*, 69, 233-249.

Herrera, C. M. (1992). Interspecific variation in fruit shape: Allometry, phylogeny, and adaptation to dispersal agents. *Ecology*, 73, 1832-1841.

Herrera, C. M. (2009). *Multiplicity in unity: Plant subindividual variation and interactions with animals*: University of Chicago Press. Chicago, Illinois, USA.

Herrera, C. M., Jordano, P., Lopez-Soria, L., & Amat, J. A. (1994). Recruitment of a mast-fruited, bird-dispersed tree: Bridging frugivore activity and seedling establishment. *Ecological Monographs*, 64, 315-344.

Howe, H., & Smallwood, J. (1982). Ecology of seed dispersal. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13, 201-228.

Janzen, F. J., & Stern, H. S. (1998). Logistic regression for empirical studies of multivariate selection. *Evolution*, 52, 1564-1571.

Jordano, P. (1987). Avian fruit removal: Effects of fruit variation, crop size, and insect damage. *Ecology*, 68, 1711-1723.

Jordano, P. (1995). Frugivore-mediated selection on fruit and seed size: Birds and St. Lucie's cherry, *Prunus mahaleb*. *Ecology*, 76, 2627-2639.

Jordano, P. (2000). Fruits and frugivory (pp 125-165) In Fenner, M. (ed.). *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*, Second edition. CAB International Publishing. Wallingford.

Jordano, P., & Herrera, C. M. (1995). Shuffling the offspring: Uncoupling and spatial discordance of multiple stages in vertebrate seed dispersal. *Ecoscience*, 2, 230-237.

Kingsolver, J., Hoekstra, H., Hoekstra, J., Berrigan, D., Vignieri, S., Hill, C., Hoang, A., Gibert, P., & Beerli, P. (2001). The strength of phenotypic selection in natural populations. *The American Naturalist*, 157, 245-261.

Kruuk, L., & Garant, D. (2007). A wake-up call for studies of natural selection? *Journal of Evolutionary Biology*, 20, 30-33.

Lande, R., & Arnold, S. J. (1983). The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, 37, 1210-1226.

Lang, D. (1987). *The Complete Book of British Berries*. Threshold Books, Ltd, London.

Larrinaga, A. R. (1998). Behaviour of Redwing (*Turdus iliacus* L.) during feeding on berries of Hawthorn (*Crataegus monogyna*). *Etología*, 5, 9-18.

Larrinaga, A. R. (2004). *Factores que afectan a la selección de fruto por parte de aves frugívoras del género Turdus*. Tesis de Doctorado. Servizo de Publicacións e Intercambio Científico. Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela.

Leishman, M. R., Wright, I. J., Moles, A. T., & Westoby, M. (2000). The evolutionary ecology of seed size. (pp. 31-59). In Fenner, M. (ed.). *Seeds. The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. CAB International, Cambridge.

Manly, B. F. J. (2006). *Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology*, Third edition. Chapman & Hall/CRC. London.

Martínez, I., García, D., & Obeso, J. R. (2007). Allometric allocation in fruit and seed packaging conditions the conflict among selective pressures on seed size. *Evolutionary Ecology*, 21, 517-533.

Mazer, S. J., & Wheelwright, N. T. (1993). Fruit size and shape: Allometry at different taxonomic levels in bird-dispersed plants. *Evolutionary Ecology*, 7, 556-575.

Mojonnier, L. (1998). Natural selection on two seed-size traits in the common morning glory *Ipomoea purpurea* (Convolvulaceae): Patterns and evolutionary consequences. *The American Naturalist*, 152, 188-203.

Moles, A. T., & Westoby, M. (2004). Seedling survival and seed size: A synthesis of the literature. *Ecology*, 92, 372-383.

O'Neil, P. (1999). Selection on flowering time: An adaptive fitness surface for nonexistent character combinations. *Ecology*, 80, 806-820.

Parciak, W. (2002). Environmental variation in seed number, size, and dispersal of a fleshy-fruited plant. *Ecology*, 83, 780-793.

Rausher, M. D. (1992). The measurement of selection on quantitative traits: Biases due to environmental covariances between traits and fitness. *Evolution*, 46, 616-626.

Rey, P. J., & Gutiérrez, J. E. (1997). Elección de fruto y conducta de alimentación de aves frugívoras en olivares y acebuchares: Una estrategia óptima basada en la razón beneficio/tiempo de manipulación. *Ardeola*, 44, 27-39.

Sallabanks, R. (1992). Fruit fate, frugivory, and fruit characteristics: A study of the Hawthorn, *Crataegus monogyna* (Rosaceae). *Oecologia*, 91, 296-304.

Sallabanks, R. (1993). Hierarchical mechanisms of fruit selection by an avian frugivore. *Ecology*, 74, 1326-1336.

Sallabanks, R., & Courtney, S. (1992). Frugivory, seed predation, and insect-vertebrate interactions. *Annual Review of Entomology*, 37, 377-400.

Snow, D. W. (1988). *A study of blackbirds*. British Museum, London.

Sobral, M., Larrinaga, A.R., & Guitián, J. (in press) Fruit size preferences in wild and naïve Blackbirds (*Turdus merula*) feeding on hawthorn fruits (*Crataegus monogyna*). *The Auk*. 00, 000-000.

Stanton, M. L., & Thiede, D. A. (2005). Statistical convenience vs biological insight: Consequences of data transformation for the analysis of fitness variation in heterogeneous environments. *New Phytologist*, 166, 319-337.

Stinchcombe, J. R., Rutter, M. T., Burdick, D. S., Tiffin, P., Rausher, M. D., & Mauricio, R. (2002). Testing for environmentally induced bias in phenotypic estimates of natural selection: Theory and practice. *The American Naturalist*, 160, 511-523.

Stinchcombe, J. R., Agrawal, A. F., Hohenlohe, P. A., Arnold, S. J., Blows, M. W., & Goodnight, C. (2008). Estimating nonlinear selection gradients using quadratic regression coefficients: Double or nothing? *Evolution*, 62, 2435-2440.

Wheelwright, N. T. (1985). Fruit-size, gape width, and the diets of fruit-eating birds. *Ecology*, 66, 808-818.

Wheelwright, N. T. (1993). Fruit size in a tropical tree species: Variation, preference by birds, and heritability. *Plant Ecology*, 107, 163-174.

Willson, M. F., & Traveset, A. (2000). The ecology of seed dispersal (pp. 61-86). In Fenner, M. (ed.). *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*, Second edition. CAB International Publishing. Wallingford.

Zhang, X. S., & Hill, W. G. (2005). Evolution of the environmental component of the phenotypic variance: Stabilizing selection in changing environments and the cost of homogeneity. *Evolution*, 59, 1237-1244.



**CAPÍTULO 3. VARIACIÓN ESPACIO-TEMPORAL DEL
TAMAÑO DE LOS FRUTOS Y SEMILLAS DE *Crataegus
monogyna*. FACTORES ABIÓTICOS Y PRESIONES DE
SELECCIÓN EJERCIDAS POR LOS DISPERSANTES
DE SEMILLAS**

Resumen

Estudíé los tamaños de frutos y semillas en relación a la edad, la cosecha, las condiciones edáficas y la selección de los frutos por los dispersantes, en un total de 90 árboles pertenecientes a tres poblaciones de *Crataegus monogyna* de la misma región (Bierzo-O Caurel) durante dos años consecutivos. Los tamaños de fruto y semilla fueron significativamente diferentes entre poblaciones y años, al igual que su variabilidad intra-individual. Las condiciones abióticas también fueron diferentes entre poblaciones y años y afectaron al tamaño de frutos y semillas dentro de cada población. Sin embargo, este efecto no fue homogéneo ni entre poblaciones ni entre años, y podría depender de los valores particulares de los diferentes factores ambientales en las diferentes poblaciones. Por otro lado, las presiones selectivas ejercidas por las aves dispersantes sobre los rasgos de frutos y semillas resultaron similares. En consecuencia, a una escala regional, las diferencias fenotípicas encontradas entre poblaciones podrían estar determinadas por diferencias en los factores ambientales abióticos medidos, o por diferencias en presiones de selección en otras etapas del proceso reproductivo no estudiadas aquí.

1. Introducción

Las tendencias evolutivas de una especie dependen de la variabilidad de sus rasgos entre y dentro de poblaciones, de las presiones selectivas que actúan en las diferentes poblaciones y del flujo génico entre ellas (Thompson 1994). En este sentido, en las plantas que producen frutos carnosos se ha documentado una importante variabilidad entre poblaciones para diferentes rasgos de los frutos (Obeso 1998, García et al. 2000).

Los factores que pueden explicar esta variación son de distinto tipo. Factores abióticos, como por ejemplo los nutrientes del suelo y la disponibilidad de agua, pueden estar sujetos a heterogeneidad espacial y, por tanto, podrían ser responsables de parte de la variabilidad fenotípica dentro de la población, incluso en ausencia de elevada varianza genotípica (Gillespie 1974). Existen numerosos estudios que prueban la relación existente entre algunos factores abióticos y las características de flores, frutos y semillas. A este respecto, por

ejemplo, se ha estudiado la influencia de la luz (Jacquemyn et al. 2008), el efecto del nitrógeno, fósforo y potasio (Burkle y Irwin 2009, Quaggio et al. 2002, Nava y Dechen 2009) y el efecto del agua en el suelo (Michelakis 1989, Herrera 1991). Por otro lado, las diferencias en las características fenotípicas podrían ser resultado de adaptación local a diferentes presiones selectivas. Las presiones de selección ejercidas por los animales mutualistas que dispersan las semillas, pueden diferir tanto entre poblaciones (por ejemplo, Guitián et al. 1992, Fedriani et al. 2004), como entre años dentro de la misma población (Howe 1983, Sallabanks 1993, Sallabanks y Courtney 1993, Herrera 1998) y algunos de los rasgos de las plantas más adecuados para explorar dicha variación son las características del fruto.

Los estudios sobre el papel del tamaño de fruto en los sistemas de endozoocoria se han centrado típicamente en las presiones selectivas que ejercen los frugívoros sobre su media, sin tener en cuenta la variabilidad intra-individual. La variabilidad intra-individual puede ser consecuencia de múltiples factores, tales como inestabilidad del desarrollo (p.e Diggle 1995), efectos arquitecturales (Primack 1987, Peters et al. 1988, Diggle 1995), procesos de distribución de los recursos (Mossop et al. 1994) o efectos debidos al donante de polen (Zangerl et al. 2003). Además, la variabilidad intra-individual también podría modificarse como consecuencia de la selección. Por ejemplo, bajo competencia por los dispersantes, las plantas con una elevada variabilidad podrían conseguir una proporción más elevada de semillas dispersadas, cuando diferentes dispersantes consumen frutos de diferentes partes de la distribución de tamaños (Jordano 1984). Alternativamente, las plantas con una elevada variabilidad intra-individual podrían ser menos seleccionadas por los dispersantes (Herrera 2009). En este contexto, la variabilidad intra-individual del tamaño del fruto y de la semilla puede considerarse un rasgo expuesto a presiones selectivas (Zhang and Hill 2005, Herrera 2009), aunque hay que tener en cuenta que todavía no se ha verificado la heredabilidad de este rasgo (Castellanos et al. 2008).

El tamaño de la semilla se puede entender como un rasgo materno debido a que gran parte de su variación se puede explicar por efectos maternos. La cantidad y calidad de los recursos disponibles dependen del ambiente

materno (Bawa y Webb 1984, Niesenbaun 1999). Por otro lado, la mayor parte de la masa de la semilla es debida al endospermo y dos tercios de su material genético es de origen materno (Bawa y Webb 1984, Niesenbaun 1999). Además, los endocarpos de las semillas están constituidos principalmente por células maternas (Haig y Westoby 1988). Por supuesto, parte de esta variación puede ser debida a variabilidad genética (Marshall 1991).

En primer lugar, en el presente capítulo pretendo conocer si existen diferencias entre poblaciones y años en el tamaño de los frutos y las semillas producidos por árbol, tanto en los valores medios como en las variaciones intra-individuales. En segundo lugar, describo, al mismo nivel, las variaciones de las condiciones ambientales de las plantas y las presiones selectivas ejercidas por los frugívoros sobre los rasgos de frutos y semillas y analizo cual podría ser el efecto de ambos grupos de factores sobre dichos rasgos. El análisis a una escala regional permite estudiar la variación de las presiones de selección ejercidas por los dispersantes y la variación de las características ambientales, eliminando, al menos, parte del posible efecto de la distancia genética entre las poblaciones. Para estudiar la selección del fruto por parte de las aves frugívoras, el espino blanco (*Crataegus monogyna*, Rosaceae) es una especie adecuada, ya que el 90% del consumo de sus frutos lo lleva a cabo un reducido número de especies de aves (zorzales y mirlos; género *Turdus*) de características muy similares y que pueden considerarse funcionalmente equivalentes (Larrinaga 1998, Zamora 2000).

Debido a que las presiones selectivas sobre el tamaño de frutos y semillas parecen estar ejercidas principalmente sobre el diámetro del fruto y la longitud de la semilla (véase capítulo 2), en este capítulo me centraré sobre el diámetro del fruto y la longitud de la semilla y sus variabilidades intra-individuales y me referiré a ellas como tamaño de fruto y tamaño de semilla. En concreto, he examinado las siguientes hipótesis: (1) Existen variaciones entre poblaciones y entre años en el tamaño de los frutos y de las semillas, las cuales están relacionadas con las variaciones de factores ambientales abióticos (2) Las presiones selectivas ejercidas por los dispersantes varían entre poblaciones y están relacionadas con las variaciones del tamaño de los frutos y de las semillas.

2. Métodos

2.1. Selección de las poblaciones y los árboles

En la primavera de 2006, elegí tres poblaciones de *Crataegus monogyna* en las localidades de Hospital (Pedrafita do Cebreiro, Lugo 42°42'N, 7° 06' O; 1.260 m s.n.m.), Mostad (Folgosos do Courel, Lugo 42°37'N 7°09'O; 859 m s.n.m.) y Vilar desilva (Rubiá, Ourense 42°28'N, 6°50'O; 559 m s.n.m.) (Fig. 1). En cada una de estas tres poblaciones elegí al azar y marqué 30 árboles. Además utilicé en este estudio los 30 árboles seleccionados en la población de Carucedo (véase capítulo 2). En cada árbol, marqué tres ramas con etiquetas metálicas, con el objeto de controlar la evolución del consumo ejercido por las aves dispersantes a través del tiempo, y señalé, bajo las copas, dos cuadrados en el suelo, de 0,5*0,5 m, para controlar el número y tamaño de los frutos caídos (véase capítulo 2). Recogí una muestra de 50 frutos de cada árbol al inicio de la temporada, con el fin de caracterizar el tamaño del fruto y de la semilla de los individuos, y estimé su cosecha inicial. En 2006 las cosechas se estimaron a partir de fotografías digitales. Para ello, se realizó una fotografía de cada uno de los árboles que posteriormente se trató con el programa Adobe Photoshop CS2, para destacar y contar los frutos en su totalidad. En 2007 las cosechas fueron mucho más bajas, por lo que el conteo de todos los frutos se realizó *in situ* con la ayuda de un contador manual. Dado que los árboles de la localidad de Vilar desilva no produjeron apenas frutos en los dos años de estudio, esta población únicamente fue utilizada en el análisis de las características abióticas.

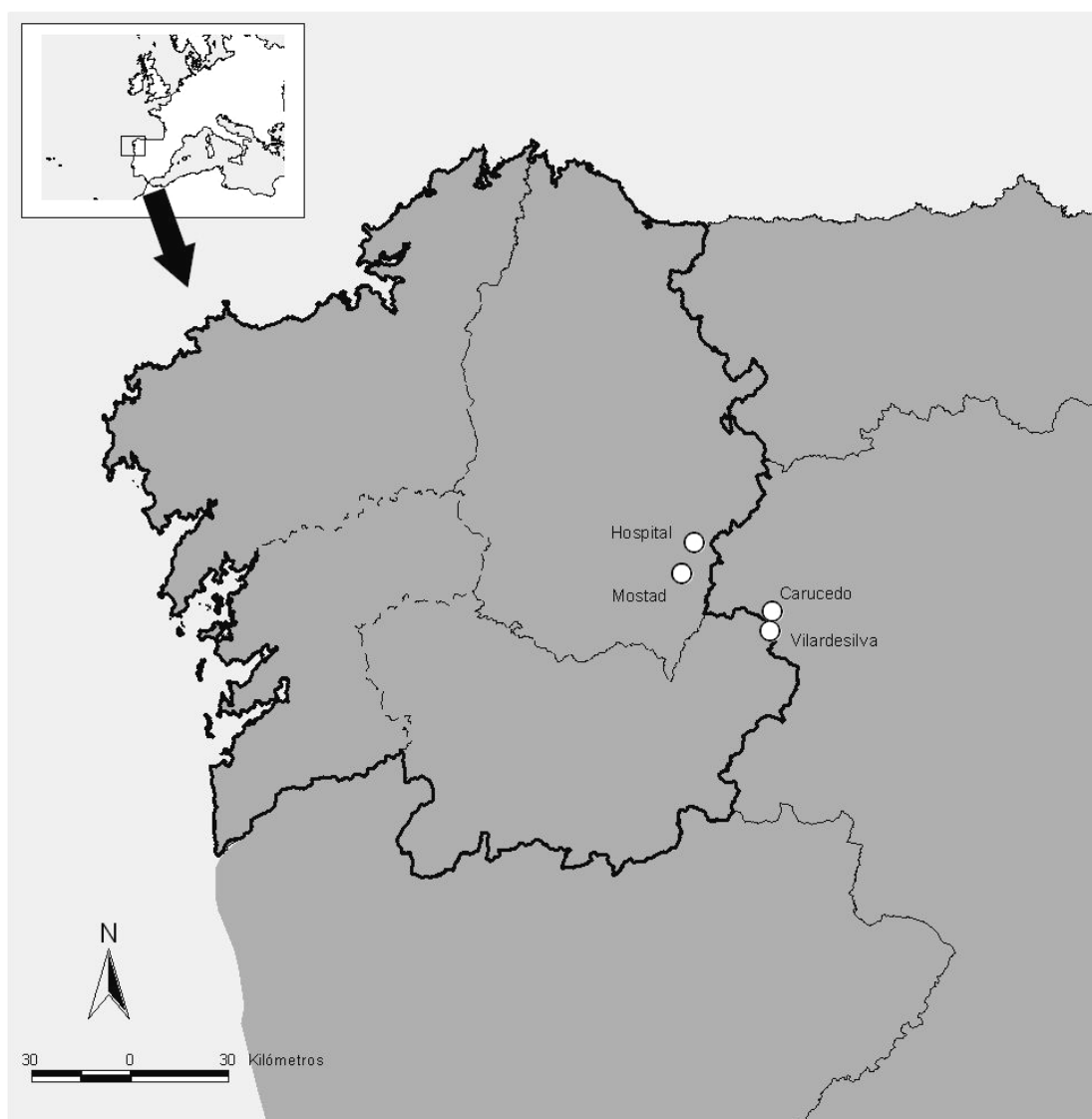


Figura 1. Mapa de la situación de las poblaciones de *Crataegus monogyna* estudiadas en este capítulo.

2.2. Estima de la selección fenotípica

Estudí la selección fenotípica ejercida por las aves dispersantes en los 90 árboles marcados, pertenecientes a las tres poblaciones, durante las temporadas de fructificación de 2006 y 2007. En 2006 recolecté 50 frutos de cada árbol el 26/09/06 (comienzo del consumo por las aves). Recogí semanalmente los frutos del suelo hasta el final del episodio de selección. La última fecha de recolección fue el 11/1/07. En 2007 repetí el protocolo en los mismos árboles, desde el 25/09/07 hasta el 22/12/07. Esta segunda temporada

de muestreo fue más corta, debido a que los árboles produjeron menor cantidad de frutos y el consumo fue más rápido. Los frutos se mantuvieron refrigerados y fueron medidos en la misma semana en que se recolectaron, con un calibre digital de precisión 0,01 mm. En total medí las longitudes y diámetros de 5.978 frutos y 5.571 semillas. Calculé el éxito reproductivo de cada árbol (número de semillas dispersadas) de manera análoga a la expuesta en el capítulo 2. Los coeficientes de selección directa y los coeficientes de selección total, para las diferentes características fenotípicas, se calcularon mediante regresiones múltiples (β y γ) o simples (S) de las características fenotípicas frente a la eficacia relativa de dispersión y fueron posteriormente estandarizados (Lande y Arnold 1983).

Durante el periodo de estudio los frutos fueron consumidos exclusivamente por *Turdus iliacus* (58,34 % de las observaciones de alimentación), *Turdus merula* (35,04 %) y *Turdus philomelos* (6,06 %) y no existieron diferencias significativas en el gremio de dispersantes, ni entre poblaciones ni entre años (ANOVA en el que la *especie* y el *año* fueron factores fijos, la *población*, factor aleatorio y, el *número de frutos consumidos*, la variable respuesta, con un esfuerzo de 150 horas de observación, 15 árboles, 5 horas por árbol y año y 545 frutos consumidos; resultados no mostrados).

2.3. Selección de covariables y determinación de la edad

Para interpretar correctamente el significado de las diferencias entre años y poblaciones, tanto en el tamaño medio de frutos y semillas como en su variabilidad intra-individual, es necesario tener en cuenta la edad de los árboles y los tamaños de la cosecha. La edad de los árboles podría afectar a la producción de los frutos (Hearn 1994, Mechliá 1989). Por ejemplo, los árboles con mayor edad podrían ser los más aptos para aprovechar los recursos porque sus sistemas radiculares están más desarrollados. Además los tamaños de las cosechas y de los frutos podrían estar limitados por los recursos de manera que el aumento de la cosecha implicaría menores tamaños de frutos y a la inversa (Sallabanks 1992, Sallabanks 1993, Jordano 1995, Parciak 2002, Lescourret y

Génard 2003) aunque se ha documentado que esta relación no es siempre así (Sallabanks 1992, Martínez et al. 2007, véase capítulo 2).

Para estimar la edad de los árboles se utilizó la técnica habitual en estudios de dendrocronología (Stokes y Smiley 1968). En otoño de 2008, extraje de cada árbol una muestra de madera de 5 mm de diámetro, perforando desde la corteza hasta la médula con una barrena de tipo *Pressler*. Posteriormente, se secaron las muestras, se montaron en soportes y se lijaron. Estimé el número de anillos con la ayuda de una lupa binocular. Por diferentes motivos, sólo consideré apropiadas las mediciones de 64 de los 90 árboles perforados

2.4. Factores abióticos

El 15 de Mayo de 2006 se tomaron muestras del suelo bajo cada uno de los árboles estudiados con la ayuda de una sonda manual tubular para toma de muestras edafológicas. Para incluir la posible heterogeneidad de las cualidades del suelo a pequeña escala, extraje tres muestras del horizonte A (entre 15 y 30 cm de profundidad) bajo cada uno de los árboles (360 muestras). Las muestras fueron secadas al aire y posteriormente se realizó un análisis de pH, nutrientes y textura del suelo a partir de las muestras compuestas (120 muestras, una para cada árbol). Se analizó el pH, la acidez potencial (pH_{KCl}), el contenido de fósforo asimilable, los cationes de cambio (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^{+} y K^{+}), y el contenido de carbono y nitrógeno.

Las muestras se secaron al aire y se tamizaron con un tamaño de malla de 2 mm. El pH y el pH en KCl 0,1M se determinaron en el laboratorio en una mezcla de suelo y agua en proporción 1:2,5. La medida se realizó por medio de un pHmetro Crison microPH 2001, tras un tiempo de espera de 10 minutos para el pH en agua y de 2 horas para el pH en KCl (Gutián y Carballas, 1976). Los cationes de intercambio se extrajeron por medio de una disolución de NH_4Cl 1M (Peech et al. 1947) y su concentración se estimó en un espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin – Elmer, modelo 2380). Los porcentajes de carbono total y nitrógeno total se determinaron con un auto-analizador Leco 1000 CNS. Finalmente, por medio de una solución de NaHCO_3 0,5 M se extrajo el fósforo

asimilable (Olsen y Sommers, 1982) y se recurrió a la colorimetría del complejo azul fosfomolibdico en un aparato Vitatron MCP (longitud de onda de 880 nm) para determinar su concentración. Los análisis se llevaron a cabo en el laboratorio de Edafología e Química Agrícola de la Universidad de Santiago de Compostela.

El contenido de agua en el suelo se estimó a partir de cuatro muestreos, realizados en primavera y otoño de 2006 y 2007 (15 de mayo y 15 de octubre de 2006, 1 de junio y 12 de octubre de 2007). En cada fecha recogí muestras de suelo en tres puntos bajo cada árbol. En dichos puntos colecté un peso aproximado de 100 g en cada uno de los horizontes (A y B). Las muestras se transportaron en nevera al laboratorio y, tras pesarlas, se secaron en la estufa durante 24 h a 105° C hasta peso constante. Estimé la cantidad de agua en el suelo como: (peso fresco suelo - peso seco suelo) / peso seco suelo. Determiné el contenido de agua en el suelo bajo cada árbol, como la media de las diferentes muestras de dicho árbol.

2.5. Análisis estadísticos

Cuantifiqué la variabilidad intra-individual en los caracteres de frutos y semillas mediante el Coeficiente de Variación (CV) de estos caracteres, ya que la varianza y la desviación estándar son dependientes de la escala y, por tanto, no pueden ser usadas apropiadamente para comparar niveles de variabilidad (Pearson 1901, Zar 1999).

2.5.1. Diferencias del tamaño del fruto y de la semilla y de su variabilidad intra-individual entre poblaciones y años

Los análisis utilizados fueron Modelos Lineales Mixtos (LMM en adelante) en los que el *año* se incluyó como factor fijo de medidas repetidas y el *árbol* como factor aleatorio. La *población* se incluyó como factor fijo entre sujetos. Dado el posible efecto de la cosecha y la edad sobre los rasgos medidos, ambas se incluyeron como covariables en los análisis. Incluí las interacciones de las covariables con los factores fijos. Los modelos se

simplificaron eliminando uno a uno los efectos con valores de p mayores que 0,25.

2.5.2. Diferencias de las características abióticas entre poblaciones y años. Efecto sobre el tamaño de los frutos y semillas y sobre su variabilidad intra-individual

Con el objeto de reducir el número de variables y evitar los efectos de colinealidad, realicé un análisis de componentes principales (PCA) sobre el conjunto de medidas edáficas, exceptuando el agua del suelo. Debido a problemas logísticos no pude disponer de las medidas del porcentaje de carbono y nitrógeno para algunas de las muestras. Sin embargo, el carbono y el nitrógeno resultaron altamente correlacionados con el resto de los elementos medidos en el suelo y su inclusión en el PCA no cambió sustancialmente sus resultados (datos no mostrados). Por tanto, no fueron incluidos en el PCA, lo que me permitió incluir un número mayor de árboles en los análisis. Extraje dos componentes principales, con autovalores mayores que 1, que explicaron el 78,32 % de la varianza acumulada de la muestra y que se corresponden con los nutrientes (cationes de calcio y fósforo asimilable) y con la acidez del suelo (pH medido en agua y pH medido en KCl) (Anexo I). Utilicé estos factores, en primer lugar, como variables respuesta en los ANOVAS empleados para determinar las diferencias entre poblaciones y años. Por otra parte también fueron utilizados como variables explicativas, junto con el porcentaje de agua en el suelo en otoño y en primavera, para determinar su efecto sobre las características fenotípicas de frutos y semillas. Por lo demás, la estructura del modelo y el método de reducción de parámetros fueron similares a los descritos en el párrafo anterior, excepto que, debido a la estructura de los datos, en este caso el árbol no se introdujo como factor.

2.5.3. Análisis de las diferencias entre poblaciones y años en las presiones selectivas

Para analizar la existencia de variación espacial y temporal en los patrones de selección fenotípica, incluí la *localidad* y el *año* como factores en las regresiones utilizadas para calcular los coeficientes de selección: Realicé una regresión múltiple en el caso de los gradientes de selección (β y γ) y una

regresión simple en el caso de los coeficientes de selección total (S) (Lande y Arnold 1983). Mediante la interacción de los factores (*localidad* y *año*) con las covariables (*tamaño* y *variabilidad intra-individual* de frutos y semillas) evalué las diferencias en los coeficientes de selección entre poblaciones y años. Calculé la eficacia relativa de dispersión de acuerdo con lo expuesto en el capítulo 2, pero, en este caso, con respecto a la media de todos los árboles de las tres poblaciones en los dos años. Finalmente, introduje el *año* como un factor de medidas repetidas y el *árbol* como sujeto (factor aleatorio).

(a) Diferencias en los coeficientes de selección totales (S)

Para estimar las diferencias espacio-temporales en los coeficientes de selección total (S), incluí como covariable la característica fenotípica de interés en cada caso (*tamaño de fruto*, *variación*, *cosecha*, etc.) y ajusté varios LMM con interacciones de la covariable con la población, con el año, con ambas o sin interacciones. Seleccioné el modelo con menor AICc (Burnham and Anderson 2002) para cada variable fenotípica.

(b) Diferencias en los gradientes de selección directa (β y γ)

Para estimar las diferencias espacio-temporales en los gradientes de selección directa, realicé un análisis similar al descrito en el apartado anterior, pero incluyendo todos los rasgos fenotípicos simultáneamente. Construí tres modelos: sin interacción entre las covariables y los factores (*poblaciones* y *años*), con interacción entre las covariables y las *poblaciones* y con interacción entre las covariables y el *año*. No pude incluir en el mismo modelo las interacciones de las covariables con los factores *año* y *localidad* debido a limitaciones del tamaño de muestra. Al igual que en el caso anterior, seleccioné el modelo con un menor AICc. Realicé todos los análisis con el programa SPSS versión 17.

3. Resultados

3.1. Diferencias de tamaño de frutos y semillas y de su variabilidad intra-individual entre poblaciones y años

El tamaño medio de los frutos de los árboles varió entre poblaciones y entre años. Asimismo, la variabilidad intra-individual del tamaño del fruto fue diferente entre poblaciones y entre años (Tabla 1, Fig. 2). El tamaño medio de las semillas, sin embargo, varió entre poblaciones pero no entre años. La variabilidad intra-individual de este rasgo fue diferente entre poblaciones y entre años. Entre los patrones generales, destaca el hecho de que los árboles de la población de Hospital produjeron en cualquiera de los años de estudio los frutos y semillas de mayor tamaño y, al mismo tiempo, menos variables, mientras que los árboles de la población de Carucedo produjeron los frutos y semillas más pequeños y más variables (Fig. 2).

La edad de los árboles tuvo un efecto significativo tanto sobre el tamaño de los frutos como sobre el tamaño de las semillas, de tal manera que los árboles de mayor edad produjeron frutos y semillas mayores. De igual manera, los árboles con cosechas más grandes produjeron también frutos mayores y menos variables (Tabla 1, Fig. 3). Además, encontré un efecto positivo de la edad sobre la cosecha en 2007 pero no en 2006, el cual fue diferente entre poblaciones (ANCOVA, datos no mostrados).

Tabla 1. Resultados de los LMM realizados para analizar la variación espacio-temporal de los rasgos fenotípicos considerados y su relación con la edad del árbol y el tamaño de la cosecha. Los efectos con $p > 0,25$ han quedado fuera del modelo y no se incluyen en la tabla.

Variable respuesta	Factor	gl	F	p	
Diámetro del fruto	población	2	84,06	21,81	0,000
	año	1	77,33	5,64	0,020
	cosecha	1	92,82	7,92	0,006
	edad	1	94,82	15,62	0,000
	población * cosecha	2	92,07	1,84	0,164
	población * año	2	77,16	4,73	0,011
Longitud de la semilla	población	2	93,87	43,50	0,000
	cosecha	1	85,49	2,04	0,157
	edad	1	97,87	5,41	0,022
	población * cosecha	2	88,26	2,54	0,084
CV diámetro de fruto	población	2	92,42	8,01	0,001
	año	1	92,41	9,31	0,003
	cosecha	1	97,89	10,62	0,002
	población * año	2	92,47	1,52	0,224
CV longitud de semilla	población	2	97,97	6,85	0,002
	año	1	92,19	12,32	0,001
	cosecha	1	94,04	18,99	0,000
	población * cosecha	2	95,70	2,01	0,139

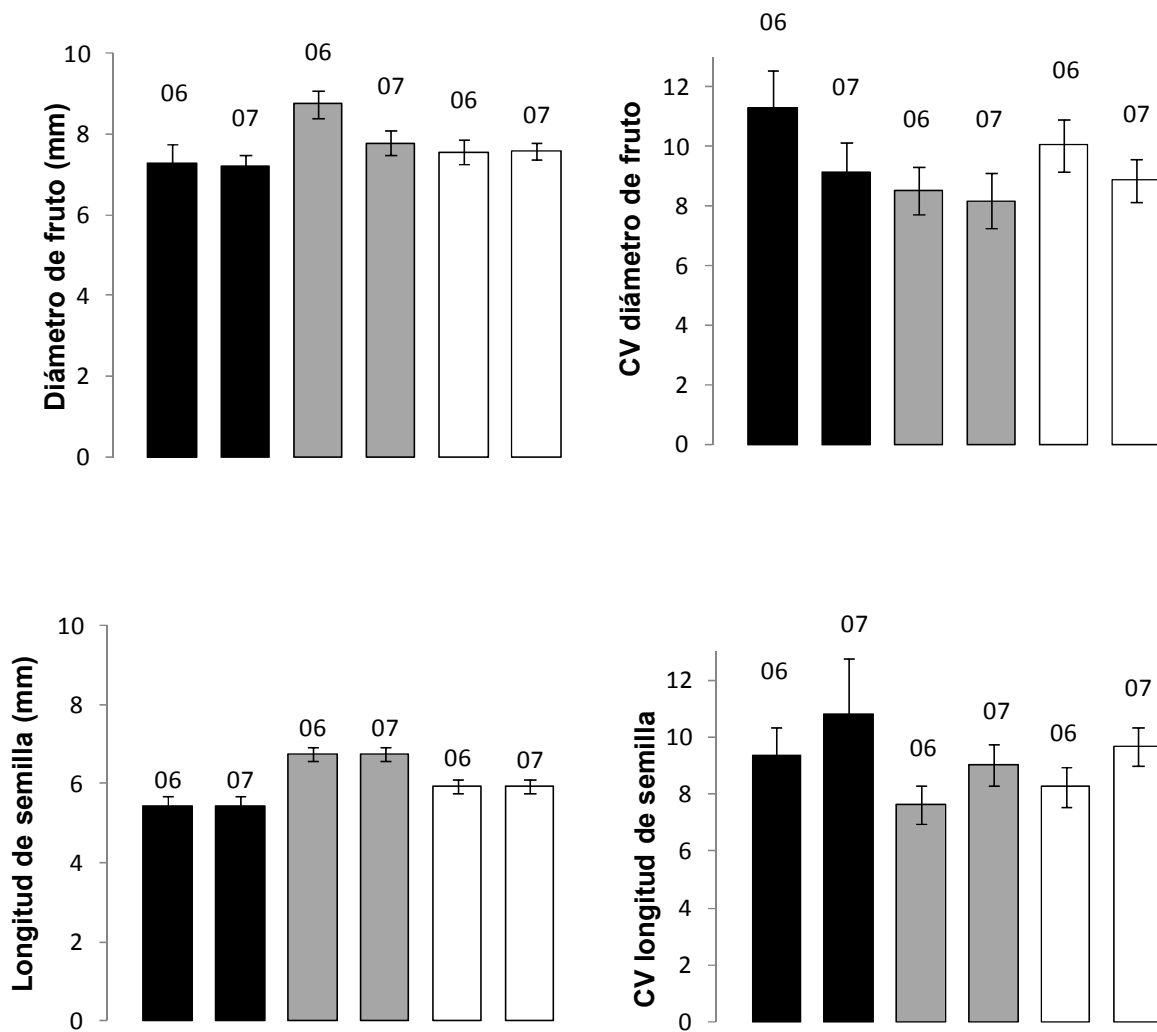


Figura 2. Medias estimadas del tamaño de los frutos y semillas y de la variabilidad intra-individual en las tres poblaciones estudiadas. Se muestran los valores para los dos años de estudio (2006, 2007). Las barras indican el intervalo de confianza. Negro: Carucedo; Gris: Hospital; Blanco: Mostad.

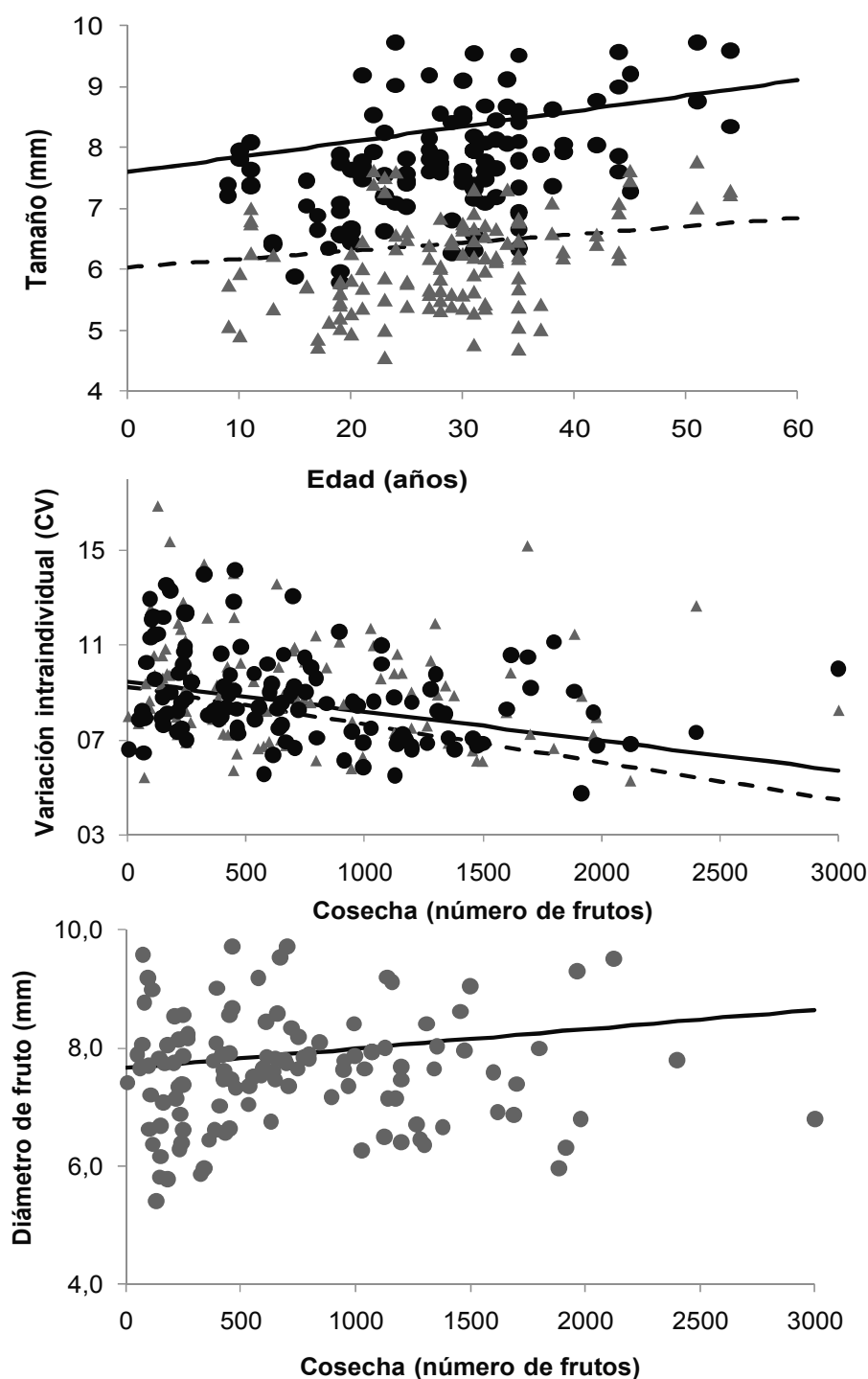


Figura 3. Pendientes estimadas y valores observados de la relación entre el tamaño y la variabilidad intra-individual de frutos y semillas con la cosecha y la edad de los árboles. Se muestran los efectos significativos ($p < 0,05$). Círculos y trazo continuo: fruto, triángulos y trazo discontinuo: semillas.

3.2. Diferencias de las características abióticas entre poblaciones y años y su efecto sobre los rasgos de los frutos y de las semillas

El contenido de agua del suelo varió entre poblaciones y años (Tabla 2), siendo mayor en Hospital, seguido de Mostad y Carucedo. En general, el contenido de agua del suelo en otoño fue mayor en 2006 que en 2007, mientras que en primavera la tendencia se invirtió (Fig. 4). Estas variaciones afectaron al tamaño medio del fruto y de la semilla de los árboles y a su CV, aunque de forma diferente en cada población y año (Tabla 3). Por ejemplo, mientras que en Hospital el contenido de agua estuvo relacionado negativamente con los tamaños de frutos y semillas, en las poblaciones de Carucedo y Mostad la relación fue opuesta, es decir, los tamaños de frutos y semillas resultaron mayores cuanto mayor es el grado de saturación de agua del suelo (Tabla 4).

El pH del suelo también varió entre poblaciones, con una acidez máxima en Mostad y mínima en Carucedo (Tabla 2, Fig. 4). Una vez más, el efecto de la acidez del suelo sobre el tamaño medio de frutos y semillas, así como sobre la variabilidad intra-individual, también cambió entre poblaciones (Tabla 3). Por ejemplo, en Hospital los árboles que crecen en suelos más ácidos produjeron frutos de mayor tamaño, mientras que en el resto de las poblaciones este rasgo no cambia en respuesta a la acidez. Sin embargo, tanto en Carucedo como en Mostad, la acidez del suelo afectó a la variación intra-individual del diámetro de fruto (Tabla 4).

El caso de los nutrientes fue similar, ya que resultaron variables entre poblaciones, con valores máximos en Hospital y mínimos en Carucedo (Tabla 2, Fig. 4). La disponibilidad de nutrientes afectó al tamaño del fruto, pero con importantes diferencias entre poblaciones (Tabla 3). Por ejemplo, mientras que en los árboles de Hospital los nutrientes afectaron de modo positivo al tamaño del fruto, en Mostad, los árboles que crecen sobre suelos con más nutrientes presentaron frutos de menor tamaño. En el Anexo II se expone un resumen de las características de las poblaciones estudiadas.

Tabla 2. Resultados de los LMM univariantes realizados para determinar diferencias en las características edáficas entre las poblaciones y los años. Las variables *nutrientes del suelo* y *acidez del suelo* son los dos factores principales extraídos del PCA sobre el conjunto de medidas edáficas (véase el texto para más detalles). Los efectos con $p > 0,25$ han quedado fuera del modelo y no se incluyen en la tabla.

Variable respuesta	Factor	gl		F	p
% Agua de suelo en otoño	población	3	116,09	83,09	0,000
	año	1	115,84	172,47	0,000
	población * año	3	116,09	20,44	0,000
% Agua de suelo en primavera	población	3	162,28	75,43	0,000
	año	1	163,02	16,11	0,000
	población * año	3	162,28	24,79	0,000
Nutrientes del suelo	población	3	93,00	52,36	0,000
Acidez del suelo	población	3	93,00	20,49	0,000

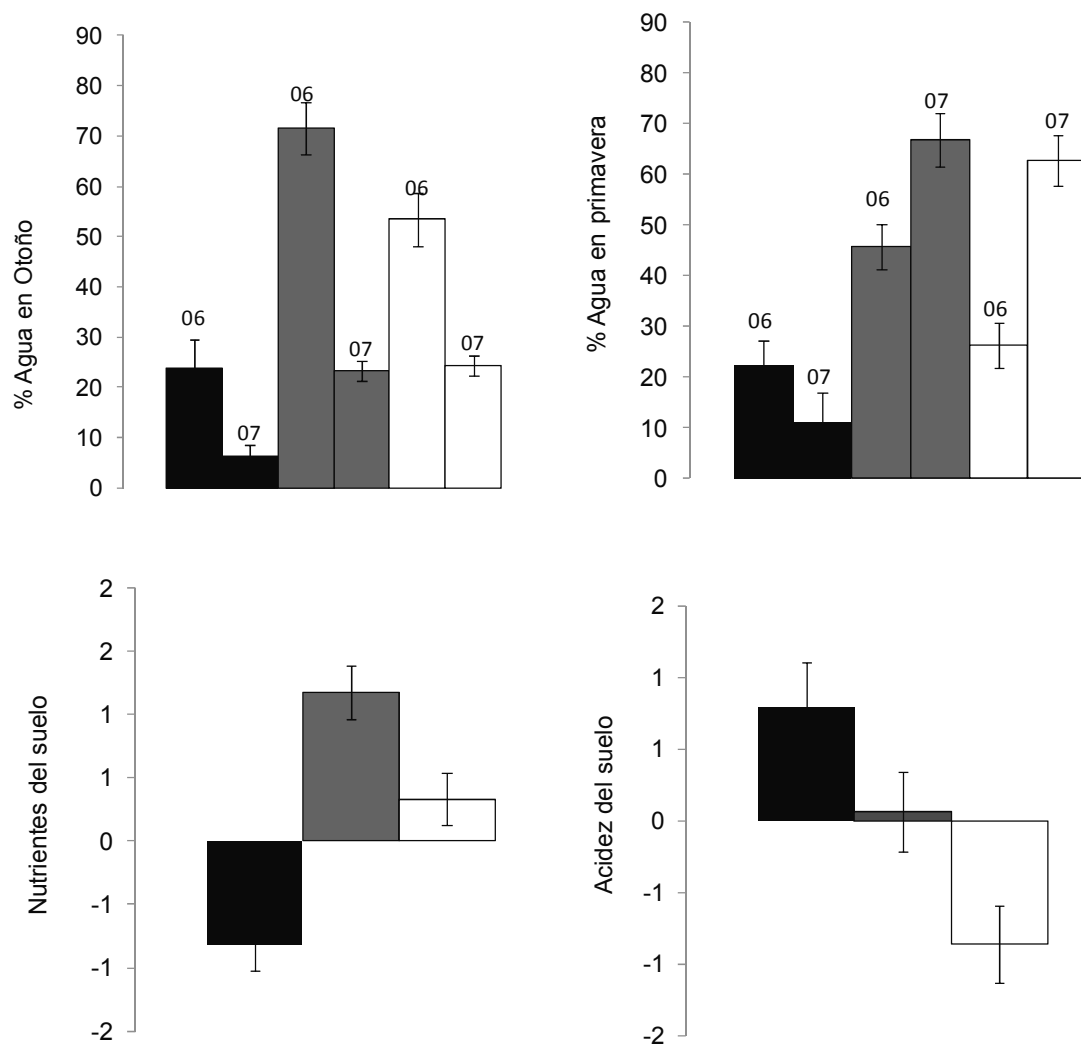


Figura 4. Medias estimadas de las características del suelo estudiadas en los años 2006 y 2007. Los valores para *nutrientes del suelo* y *acidez del suelo* son los factores extraídos del PCA sobre el conjunto de medidas edáficas (véase el Anexo I y el texto para detalles). Las líneas representan el intervalo de confianza. Negro: Carucedo, Gris: Hospital, Blanco: Mostad.

Tabla 3. Resultados de los LMM realizados para determinar el efecto de los factores abióticos sobre los tamaños medios de frutos y semillas y sobre su variación. Las variables *nutrientes del suelo* y *acidez del suelo* son los dos factores principales extraídos del PCA sobre el conjunto de medidas edáficas (véase el texto para más detalles). Los efectos con $p > 0,25$ han quedado fuera del modelo y no se incluyen en la tabla.

Variable respuesta	Factor	gl	F	p
Diámetro de fruto	población	2 84,31	1,73	0,184
	año	1 84,70	6,22	0,015
	cosecha	1 85,87	14,10	0,000
	edad	1 83,62	8,54	0,004
	población * agua suelo primavera	2 78,44	4,85	0,010
	población * nutrientes	3 82,11	8,35	0,000
	población * acidez del suelo	3 74,78	3,22	0,027
	año * población * agua suelo primavera	1 72,75	1,97	0,164
Longitud de semilla	población	2 76,52	6,80	0,002
	cosecha	1 82,99	2,99	0,087
	acidez del suelo	1 66,27	2,31	0,133
	población * agua suelo otoño	3 80,57	4,22	0,008
	población * nutrientes	3 76,29	1,77	0,160
	población * acidez del suelo	2 72,13	3,13	0,050
	año * población * agua suelo primavera	6 63,85	1,36	0,245
CV diámetro de fruto	población	2 63,13	4,07	0,022
	año	1 56,37	2,02	0,160
	población * año	2 61,57	1,39	0,250
	cosecha	1 70,85	5,38	0,023
	acidez del suelo	1 66,60	3,88	0,053
	población * agua suelo primavera	2 69,81	1,76	0,180
	población * acidez del suelo	2 69,63	6,82	0,002
	año * agua suelo primavera	1 64,49	5,42	0,023
	población * año * cosecha	5 72,54	2,12	0,073
	población * año * agua suelo primavera	2 69,57	3,84	0,026
CV longitud de semilla	población	2 82,13	9,80	0,000
	año	1 83,92	10,92	0,001
	cosecha	1 75,76	23,55	0,000
	nutrientes	1 84,05	8,05	0,006
	acidez del suelo	1 82,00	8,32	0,005
	población * cosecha	2 74,05	3,03	0,054
	población * nutrientes	2 82,45	2,52	0,086
	población * acidez del suelo	2 77,63	3,82	0,026
	año * cosecha	1 75,14	1,68	0,199
	población * año * cosecha	2 75,64	2,31	0,106

Tabla 4. Pendientes simples y errores típicos pronosticados según el LMM. El modelo estudió la relación entre el tamaño de frutos y semillas y los factores ambientales. Se incluye también el efecto principal de los nutrientes sobre el CV de la longitud de semilla. Las pendientes en negrita son significativamente diferentes de cero. E.t: Error típico.

Efecto abiótico	Variable respuesta	Población	Pendiente	E.t
Nutrientes en suelo	Diámetro de fruto	Carucedo	-0,066	0,41
		Hospital	0,520	0,13
		Mostad	-0,681	0,23
	CV de la longitud de semilla		1,560	0,78
Acidez del suelo	Diámetro de fruto	Carucedo	0,133	0,29
		Hospital	-0,419	0,15
		Mostad	0,165	0,14
	Longitud de semilla	Carucedo	0,688	0,33
		Hospital	-0,124	0,20
		Mostad	-0,025	0,00
	CV del diámetro de fruto	Carucedo	-3,454	1,20
		Hospital	0,107	0,50
		Mostad	0,918	0,00
	CV de la longitud de semilla	Carucedo	-3,193	1,15
		Hospital	-0,098	0,66
		Mostad	-0,251	0,00
% Agua del suelo en primavera	Diámetro de fruto	Carucedo	-0,031	0,03
		Hospital	-0,008	0,00
		Mostad	0,011	0,01
	CV del diámetro de fruto	Carucedo 2006	-0,149	0,30
		Hospital 2006	0,010	0,07
		Mostad 2006	-0,110	0,00
		Carucedo 2007	0,456	0,00
		Hospital 2007	-0,002	0,00
		Mostad 2007	0,007	0,00
% Agua del suelo en otoño	Longitud de semilla	Carucedo	0,054	0,03
		Hospital	-0,012	0,00
		Mostad	-0,010	0,01

3.3. Eficacia de dispersión y presiones selectivas ejercidas por los dispersantes: diferencias entre poblaciones y años

La eficacia relativa de dispersión de los árboles fue diferente entre poblaciones y años, tal como muestra la interacción significativa entre la población y el año; sin embargo, no hubo diferencias en la selección fenotípica ejercida por los dispersantes entre poblaciones y años (Tablas 5 y 6, Fig.5). Los valores del coeficiente de selección total (S) muestran que los árboles con mayor eficacia relativa fueron aquellos con frutos y semillas menos variables y con mayores cosechas. Sin embargo los coeficientes de selección directa (β y γ) muestran que dicha selección se ejerció sobre el tamaño de la cosecha y sobre el tamaño de la semilla con patrones complejos, en los que aparecen efectos cuadráticos (γ para efectos principales, Fig. 6) y selección correlacional (γ para interacciones, Tablas 6 y 7, Fig. 7). Los árboles logran una mayor eficacia relativa de dispersión cuando la variabilidad de los frutos es intermedia, especialmente si el diámetro medio de fruto es grande. Este patrón se invierte para la variación del tamaño de semilla, es decir, los árboles logran menor eficacia cuando la variación del tamaño de la semilla es intermedia y mayor eficacia cuando la variación del tamaño de la semilla es grande. Aunque teóricamente se favorecerían árboles con frutos grandes y semillas de tamaños muy variables, esta combinación de rasgos fenotípicos no existe (véase área punteada de la Fig. 7, abajo, izquierda). Los árboles con frutos de mayor tamaño tuvieron mayor eficacia relativa si además presentaron cosecha grandes (Fig. 7 abajo, derecha).

Tabla 5. Resultados de los LMM realizados para estimar los coeficientes de selección total (S) entre árboles y analizar su variación espacio-temporal (véase texto para más detalles). En todos los casos la variable respuesta fue la eficacia relativa de dispersión.

S	Factor	gl	F	p	
Diámetro del fruto	población	2	57,07	1,09	0,343
	año	1	57,08	2,33	0,132
	diámetro de fruto	1	65,23	1,69	0,197
	población * año	2	57,07	3,43	0,039
	población* diámetro de fruto	2	64,99	0,36	0,699
	año * diámetro de fruto	1	65,23	0,00	0,995
	población * año * diámetro de fruto	2	64,99	0,00	0,996
Longitud de la semilla	población	2	66,52	2,52	0,088
	año	1	67,61	6,14	0,016
	longitud de semilla	1	64,30	0,08	0,769
	población * año	2	66,52	5,16	0,008
	población * longitud de semilla	2	65,08	0,50	0,606
	año * longitud de semilla	1	64,30	0,42	0,519
	población * año * longitud de semilla	2	65,08	0,95	0,390
CV diámetro del fruto	población	2	68,22	2,56	0,084
	año	1	67,84	6,35	0,014
	variación de fruto	1	65,84	5,55	0,021
	población * año	2	66,72	10,28	0,000
CV longitud de la semilla	población	2	68,01	2,94	0,059
	año	1	67,24	2,83	0,097
	variación de semilla	1	58,78	8,29	0,006
	población * año	2	65,20	11,23	0,000

Tabla 6. Resultados del LMM realizado para estimar los gradientes de selección fenotípica (β y γ) sobre el tamaño y la variación de frutos y semillas y sobre las cosechas. La variable respuesta del modelo fue la eficacia relativa de dispersión.

Efecto	gl	F	p
población	2 61,00	4,19	0,020
año	1 60,77	3,15	0,081
población * año	2 58,83	4,31	0,018
diámetro de fruto	1 44,40	0,09	0,762
longitud de semilla	1 41,10	8,98	0,005
variación de fruto	1 38,96	3,63	0,064
variación de semilla	1 39,87	0,18	0,670
cosecha	1 36,35	101,70	0,000
diámetro de fruto * longitud de semilla	1 40,84	1,29	0,263
diámetro de fruto* variación de fruto	1 49,66	10,53	0,002
diámetro de fruto * variación de semilla	1 45,85	8,27	0,006
diámetro de fruto* cosecha	1 44,22	6,15	0,017
longitud de semilla* variación de fruto	1 38,46	0,15	0,693
longitud de semilla * variación de semilla	1 38,25	0,83	0,367
longitud de semilla* cosecha	1 40,95	1,16	0,287
variación de fruto * variación de semilla	1 37,97	0,00	0,948
variación de fruto * cosecha	1 36,18	1,03	0,315
variación de semilla * cosecha	1 35,25	1,04	0,314
diámetro de fruto* diámetro de fruto	1 52,90	1,33	0,253
longitud de semilla* longitud de semilla	1 37,44	7,14	0,011
variación de fruto * variación de fruto	1 38,12	2,99	0,091
variación de semilla* variación de semilla	1 40,78	1,65	0,206
cosecha * cosecha	1 39,84	1,62	0,210

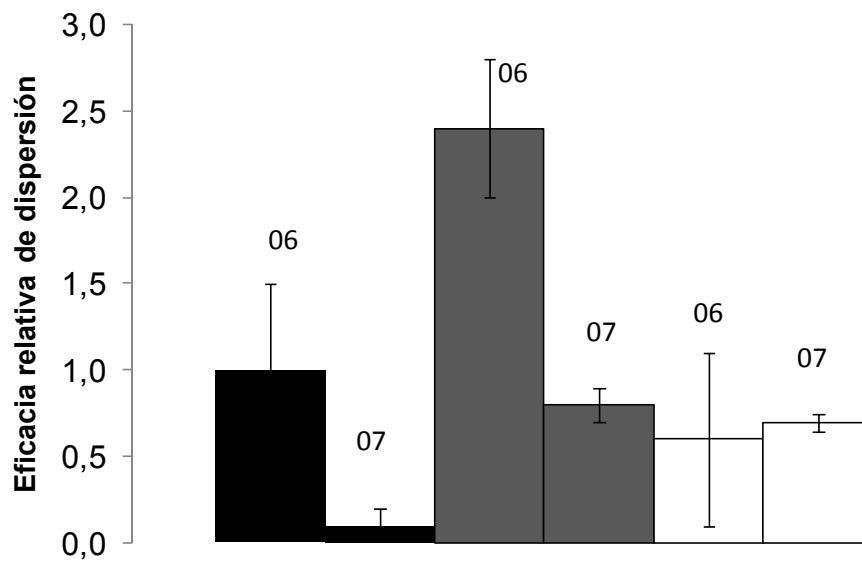


Figura 5. Medias estimadas de la eficacia relativa de dispersión en los árboles de las tres poblaciones. Se muestran los valores para los dos años de estudio (2006 y 2007). Las líneas indican el error típico. Negro; Carucedo. Gris; Hospital. Blanco; Mostad.

Tabla 7. Valores de los diferentes coeficientes de selección estandarizados (coeficientes de selección total (S); gradientes de selección directa lineal (β) y gradientes de selección directa no lineal (γ). En negrita se muestran los coeficientes significativos.

	S	β	γ
Diámetro fruto	0,341	-0,027	0,226
Longitud semilla	-0,090	-0,255	0,679
Variabilidad fruto	-0,277	-0,113	-0,333
Variabilidad semilla	-0,310	-0,034	0,284
Tamaño cosecha	0,819	0,709	0,235
Diámetro fruto * Longitud semilla	-	-	-0,156
Diámetro fruto * Variabilidad fruto	-	-	-0,425
Diámetro fruto * Variabilidad semilla	-	-	0,396
Diámetro fruto * Tamaño cosecha	-	-	0,243
Longitud semilla * Variabilidad fruto	-	-	0,044
Longitud semilla* Variabilidad semilla	-	-	0,117
Longitud semilla * Tamaño cosecha	-	-	-0,112
Variabilidad fruto * Variabilidad semilla	-	-	0,008
Variabilidad fruto * Tamaño cosecha	-	-	-0,054
Variabilidad semilla * Tamaño cosecha	-	-	0,079

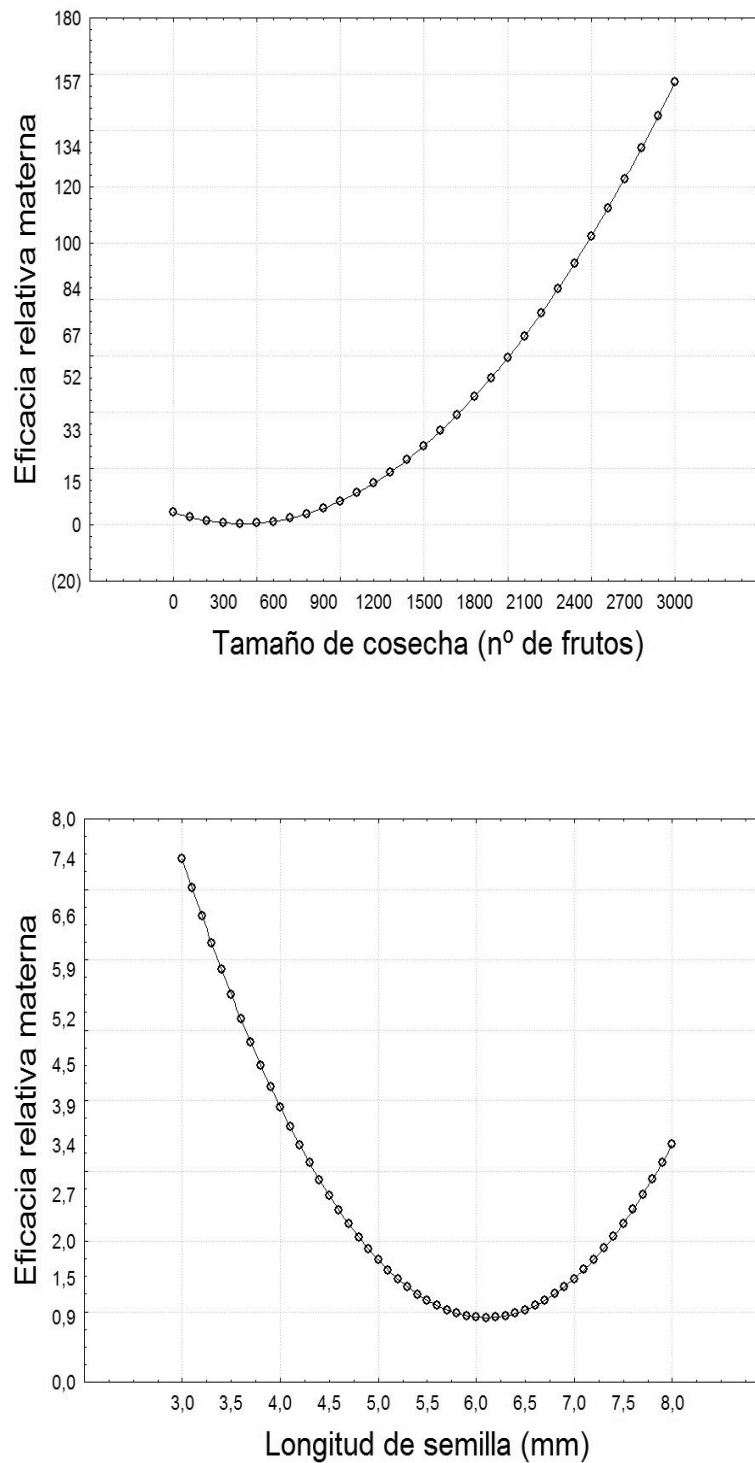


Figura 6. Curvas de selección fenotípica sobre el tamaño de la cosecha y la longitud de la semilla. Las curvas se han calculado a partir de los dos gradientes de selección directa (β) que han resultado significativos.

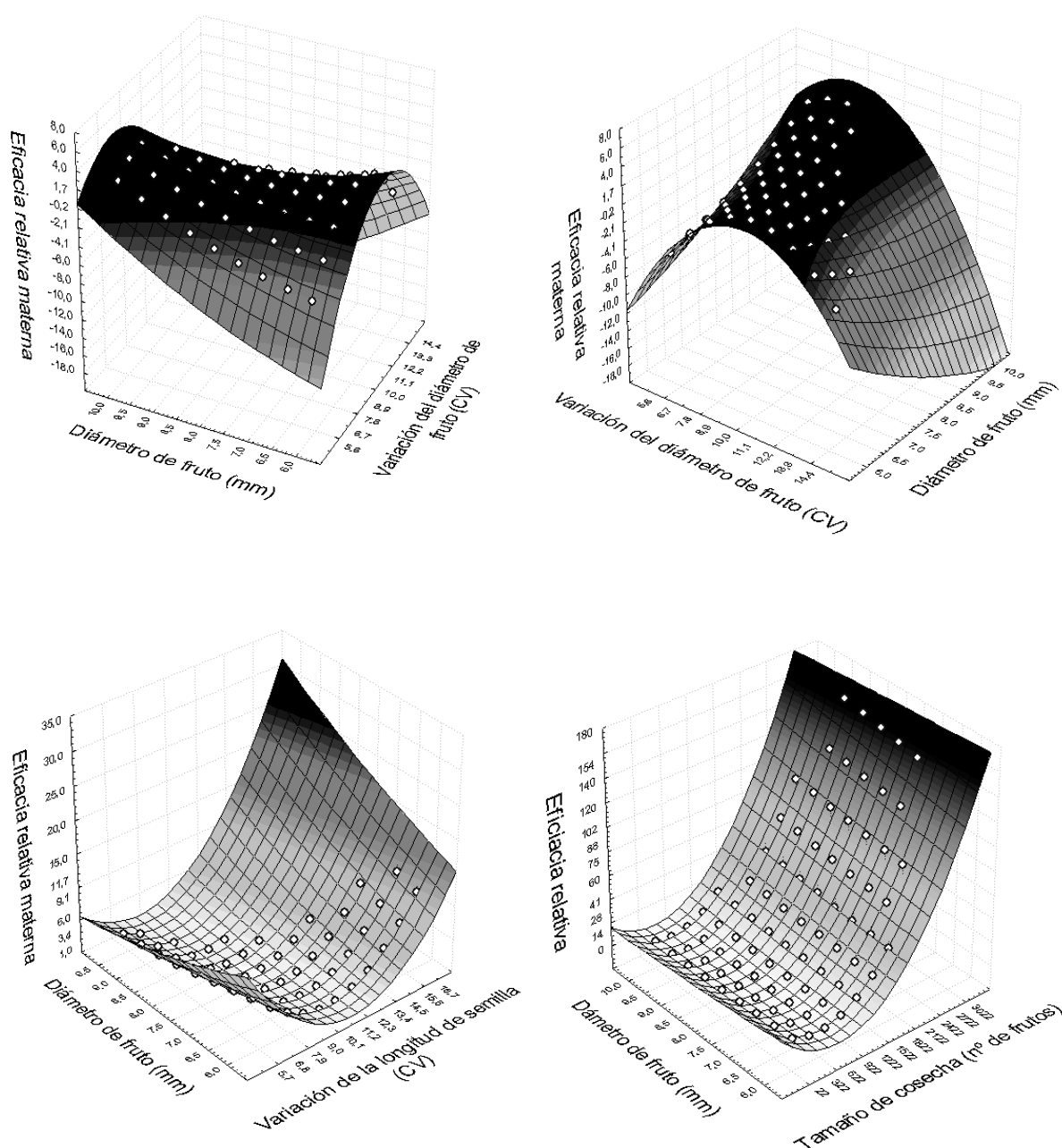


Figura 7. Superficies de selección fenotípica ejercida por las aves dispersantes dibujadas a partir de los gradientes de selección directa no-lineal (γ) que han resultado significativos. El área punteada muestra las combinaciones de valores reales detectados en las 3 poblaciones y en los dos años del estudio. Los distintos tonos indican distintos niveles de eficacia relativa. Las dos gráficas superiores son dos perspectivas diferentes de la misma superficie de selección.

4. Discusión

Los resultados apoyan la primera de las predicciones, ya que, los tamaños de frutos y semillas y sus variabilidades intra-individuales fueron diferentes entre años y poblaciones y además estuvieron afectados por la cantidad de nutrientes, la acidez y la cantidad de agua en el suelo. Sin embargo, el estudio no confirma la segunda hipótesis, puesto que las presiones de selección ejercidas por las aves dispersantes no variaron entre años ni entre poblaciones.

4.1. Tamaño y variabilidad de los frutos y las semillas

La relación encontrada entre el tamaño de cosecha y la edad de los árboles y el tamaño y la variabilidad intra-individual de frutos y semillas, indica la necesidad de tener en cuenta la ontogenia de los individuos y las características fenotípicas correlacionadas al estudiar las frecuencias de determinados fenotipos en las poblaciones.

La disyuntiva funcional entre el tamaño de la cosecha producida y el tamaño de los frutos y las semillas ha sido documentada en numerosas ocasiones (Sallabanks 1992, Sallabanks 1993, Jordano 1995, Parciak 2002, Lescourret y Génard 2003), aunque también existe información sobre especies o situaciones en las que no aparece este compromiso (Sallabanks 1992, Martínez et al. 2007, véase capítulo 2). En este estudio encontré una relación positiva entre el número y el tamaño de los frutos que produce un árbol. Esto podría indicar que, en las poblaciones y años de estudio, no se ha dado una limitación por recursos para la producción de frutos (Lescourret y Génard 2003). Por otra parte, el área punteada de la figura 7 (abajo, derecha) muestra una relación entre el tamaño del fruto y de la cosecha que podría indicar que el árbol que es capaz de producir una elevada cosecha, en general, también es capaz de producir frutos de un tamaño relativamente grande, aunque sólo hasta un cierto límite. A partir de este supuesto límite, podría limitarse el tamaño del fruto en favor de la cosecha. Es destacable, el hecho de que a pesar de que la cosecha presentó una fuerte relación con el tamaño del fruto, no presentó ningún tipo de relación con el tamaño de la semilla, el cual parece más determinado por la edad de la planta. El efecto positivo de la edad de las plantas sobre rasgos reproductivos se ha documentado para ciertos aspectos relacionados con la

eficacia, por ejemplo, para el tamaño de cosecha en nueve especies de sotobosque de América del norte (Wender et al. 2004) y para la producción de flores en *Lavandula latifolia* (Herrera 1991) o en *Cordylis intermedia* (Ehlers y Olesen 2004). Estos dos últimos estudios encontraron que el efecto positivo se paraliza cuando las plantas llegan a una cierta edad debido a los efectos de la senescencia. En este sentido, el efecto positivo de la edad sobre el tamaño de frutos y semillas que he encontrado en este estudio, podría ser debido a que los árboles estudiados son relativamente jóvenes (entre 9 y 54 años con una media de 28 años). Hay que tener presente que Schweingruber y Poschlod (2006) documentan una esperanza de vida de 97 años para los árboles de *Crataegus monogyna* en Europa.

4.2. Relación entre los factores abióticos y las características fenotípicas

Las condiciones abióticas variaron entre poblaciones y años y afectaron a la producción de frutos y semillas. En general, dentro de población, los árboles con mayor disponibilidad de recursos presentaron frutos y semillas más grandes y menos variables. Esto último podría sugerir que una parte importante de la variabilidad intra-individual se debe a la competencia entre las semillas y frutos del mismo individuo por los recursos (Stanton 1984, Wulff 1986). Sin embargo, los patrones encontrados varían entre poblaciones y años, y podrían depender del rango de variación de los diferentes factores ambientales en las diferentes poblaciones. De hecho, la mayoría de los estudios realizados sobre efectos de los factores abióticos sobre el tamaño del fruto y sobre rasgos relacionados, muestran resultados muy variables. Por ejemplo Nava y Dechen (2009) encontraron que el aumento del nitrógeno y del potasio aumentó la cosecha de las plantas de *Malus domestica* y, sin embargo, únicamente el potasio tuvo un efecto positivo sobre el tamaño de los frutos. Quaggio et al. (2009) encontraron efectos variables de algunos nutrientes sobre los tamaños de frutos y cosechas en *Citrus volkamerina*. En su estudio, el potasio resultó positivo para el tamaño de la cosecha y del fruto, mientras que el nitrógeno resultó negativo para el tamaño del fruto y tuvo un efecto no lineal sobre el tamaño de la cosecha, siendo óptimo en valores intermedios. Asimismo, el fósforo presentó un efecto no lineal tanto sobre el tamaño del fruto como el de la cosecha. Otros estudios

documentan tendencias contrarias de los nutrientes sobre características como la composición química de los frutos, el tamaño de la cosecha y el tamaño de la semilla (Galizzi et al 2004, Drenovsky y Richards 2005, Wang et al. 2008). En los suelos estudiados aquí estos elementos estuvieron positivamente correlacionados y la metodología seguida no permitió separar claramente sus efectos (véase la sección de métodos). Por tanto, parece lógica la gran variabilidad encontrada en los efectos entre poblaciones y años ya que se podrían esperar tendencias no lineales o incluso contrarias entre unos elementos y otros. Otro tanto podría suceder en cuanto a la disponibilidad de agua en el suelo, Por ejemplo, Michelakis (1989) encontró un efecto positivo de la cantidad de agua en el tamaño del fruto y de la cosecha de dos variedades de olivas y Herrera (1991) encontró que la producción de flores y semillas de *Lavandula latifolia* estuvo limitada por la disponibilidad de agua. Por el contrario, en el estudio de Burkle y Irwin (2009) el riego no tuvo efecto sobre la producción de flores y semillas tanto en *Ipomopsis aggregata* como en *Linum lewisii*.

4.3. Factores bióticos. Presiones de selección ejercidas por las aves dispersantes

Las presiones selectivas ejercidas por las aves dispersantes sobre los rasgos de frutos y semillas resultaron similares entre poblaciones y años. A menudo se ha citado una gran variabilidad en las presiones selectivas que ejercen los animales que interaccionan con las plantas sobre los rasgos de éstas, tanto espacial como temporalmente (por ejemplo Manzaneda et al. 2007, Lázaro y Traveset 2007). Algunos estudios han probado esta variación de presiones selectivas a gran escala pero no a una escala regional (Rey et al. 2006). Por todo ello, resulta importante examinar la constancia de las presiones de selección a distintas escalas.

En primer lugar, las aves consumieron más frutos de los árboles que presentaron mayores cosechas, y, consecuentemente, el número de semillas dispersadas aumentó exponencialmente con el número de frutos producidos. Además, dentro de los árboles con mayores cosechas, aquellos con más semillas dispersadas son los que presentaron frutos con un tamaño medio mayor. La selección positiva del tamaño de cosecha ha sido documentada en

numerosas ocasiones (por ejemplo Jordano 1995, Sallabanks 1992 y 1993). Por otro lado, la relación entre el tamaño medio del fruto y el éxito del árbol, coincide con el estudio de Sallabanks (1993) realizado con la misma especie en poblaciones de los Estados Unidos, en el que se probó que las aves dispersantes seleccionan primero los árboles con más frutos y, entre los árboles con cosechas parecidas, eligen los árboles con frutos de un tamaño medio mayor.

Por otra parte, los árboles con tamaños de semillas intermedios fueron los que presentaron menor eficacia relativa. Este patrón podría ser debido a que los frutos con tamaños intermedios presentan, por razones de alometría, menos cantidad de pulpa y, por lo tanto, podrían ser menos seleccionados por las aves. Sin embargo, el argumento no puede ser utilizado en este caso, ya que la regresión cuadrática del tamaño de la semilla sobre el volumen de pulpa no resultó significativa (datos no mostrados).

La selección total sobre la variabilidad intra-individual en el tamaño del fruto fue negativa. A pesar de la existencia de selección negativa, la variabilidad intra-individual podrían mantenerse debido a efectos como el alto coste que supone reducir el ruido en el desarrollo (Diggle 1995), efectos arquitecturales de la planta (Primack 1987, Peters et al. 1988, Diggle 1995), efectos debidos a la estructura del sistema vascular (Mossop et al. 1994) etc., aunque también podrían deberse a presiones selectivas contrarias ejercidas en otros momentos de la vida del individuo. Los animales antagonistas, también podrían seleccionar plantas de menor variabilidad y, por tanto, favorecer el mantenimiento de este carácter (Herrera 2009).

Debido a la relación que existe entre los factores abióticos y los caracteres fenotípicos seleccionados, los factores abióticos podrían estar influyendo de manera indirecta sobre las presiones de selección bióticas. De hecho, esta relación fue documentada por Burkle y Irwin (2009) para *Ipomopsis aggregata*, especie en la que la fertilización del sustrato tuvo efectos indirectos sobre la recepción de polen de las plantas. Esto podría indicar un problema en la estima de la selección fenotípica en condiciones naturales, ya que la correlación entre variación ambiental y eficacia reproductiva de los individuos podría enmascarar

una posible constancia genotípica, de modo que nuestras medidas estarían sobrestimando los niveles de la selección fenotípica (Kruuk et al. 2003).

A la escala regional, las diferencias fenotípicas encontradas parecen determinadas por diferencias en los factores ambientales abióticos, o quizás estén determinadas por presiones de selección diferentes a las medidas aquí, ya que no encontré diferencias en las presiones de selección ejercidas por las aves frugívoras. Sin embargo, es posible que estas presiones selectivas varíen a gran escala (por ejemplo Rey et al. 2006), ya que en poblaciones más alejadas podríamos esperar mayores diferencias en las comunidades en las que se encuentra la especie en cuestión, tanto en sus características bióticas como abióticas. En el siguiente capítulo me ocupo de estudiar estas presiones selectivas a gran escala, analizo el efecto de los factores abióticos a nivel de población y los efectos derivados de la correlación con otros rasgos fenotípicos sometidos a selección.

5. Referencias

Bawa, K., & Webb, C. (1984). Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: Implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *American Journal of Botany*, 71, 736-751.

Burkle, L. A., & Irwin, R. E. (2009). The effects of nutrient addition on floral characters and pollination in two subalpine plants, *Ipomopsis aggregata* and *Linum lewisii*. *Plant Ecology*, 203, 83-98.

Burnham, K. P., & Anderson, D. R. (2002). *Model selection and multimodel inference: A practical information-theoretic approach*. Springer Verlag. New York.

Castellanos, M., Medrano, M., & Herrera, C. (2008). Subindividual variation and genetic versus environmental effects on seed traits in a European *Aquilegia*. *Botany*, 86, 1125-1132.

Diggle, P. (1995). Architectural effects and the interpretation of patterns of fruit and seed development. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 26, 531-552.

Drenovsky, R., & Richards, J. (2005). Nitrogen addition increases fecundity in the desert shrub *Sarcobatus vermiculatus*. *Oecologia*, 143, 349-356.

Ehlers, B. K., & Olesen, J. M. (2004). Flower production in relation to individual plant age and leaf production among different patches of *Corydalis intermedia*. *Plant Ecology*, 174, 71-78.

Fedriani, J., Rey, P., Garrido, J., Guitián, J., Herrera, C., Medrano, M., Sánchez-Lafuente, A., & Cerdá, X. (2004). Geographical variation in the potential of mice to constrain an ant-seed dispersal mutualism. *Oikos*, 105, 181-191.

Galizzi, F. A., Felker, P., González, C., & Gardiner, D. (2004). Correlations between soil and cladode nutrient concentrations and fruit yield and quality in cactus pears, opuntia *Ficus indica* in a traditional farm setting in Argentina. *Journal of Arid Environments*, 59, 115-132.

García, D., Zamora, R., Gómez, J. M., Jordano, P., & Hódar, J. A. (2000). Geographical variation in seed production, predation and abortion in *Juniperus communis* throughout its range in Europe. *Journal of Ecology*, 88, 436-446.

Gillespie, J. (1974). The role of environmental grain in the maintenance of genetic variation. *The American Naturalist*, 108, 831-836.

Guitián, F., & Carballas, T. (1976). *Técnicas de análisis de suelos*. Pico Sacro. Santiago de Compostela.

Guitián, J., Fuentes, M., Bermejo, T., & López, B. (1992). Spatial variation in the interactions between *Prunus mahaleb* and frugivorous birds. *Oikos*, 63, 125-130.

Haig, D., & Westoby, M. (1988). Inclusive fitness, seed resources, and maternal care (pp 60-79). In Lovett-Doust, J. & Lovett-Doust, L. (eds.). *Plant Reproductive Ecology: Patterns and Strategies*. Oxford University Press, New York.

Hearn, C. (1994). The influence of cultivar and high nitrogen and potassium fertilization on fruit quality traits of young orange trees. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 106, 112-115.

Herrera, C. M. (1991). Dissecting factors responsible for individual variation in plant fecundity. *Ecology*, 72, 1436-1448.

Herrera, C. M. (1998). Long-term dynamics of Mediterranean frugivorous birds and fleshy fruits: A 12-year study. *Ecological Monographs*, 68, 511-538.

Herrera, C. M. (2009). *Multiplicity in unity: Plant subindividual variation and interactions with animals*. University of Chicago Press. Chicago, Illinois, USA.

Howe, H. F. (1983). Annual variation in a neotropical seed-dispersal system. (pp. 211-227). In: Sutton, S.L., Whitmore, T.C., Chadwick, A.C. (eds.). *Tropical rain forest: ecology and management*. Blackwell Scientific Publications. London.

- Jacquemyn, H., Brys, R., Honnay, O., & Hermy, M. (2008). Effects of coppicing on demographic structure, fruit and seed set in *Orchis mascula*. *Basic and Applied Ecology*, 9, 392-400.
- Jordano, P. (1984). Seed weight variation and differential avian dispersal in blackberries *Rubus ulmifolius*. *Oikos*, 43, 149-153.
- Jordano, P. (1995). Frugivore-mediated selection on fruit and seed size: Birds and St. Lucie's cherry, *Prunus mahaleb*. *Ecology*, 76, 2627-2639.
- Kruuk, L. E. B., Merilä, J., & Sheldon, B. C. (2003). When environmental variation short-circuits natural selection. *Trends in Ecology & Evolution*, 18, 207-209.
- Lande, R., & Arnold, S. J. (1983). The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, 37, 1210-1226.
- Larrinaga, A. R. (1998). Behaviour of Redwing (*Turdus iliacus* L.) during feeding on berries of Hawthorn (*Crataegus monogyna*). *Etología*, 5, 9-18.
- Lázaro, A., & Traveset, A. (2007). Does the spatial variation in selective pressures explain among-site differences in seed mass? A test with *Buxus balearica*. *Evolutionary Ecology*, 23, 1-19.
- Lescourret, F., & Génard, M. (2003). A multi-level theory of competition for resources applied to fruit production. *Ecoscience*, 10, 334-341.
- Manzaneda, A. J., Rey, P. J., & Boulay, R. E. L. (2007). Geographic and temporal variation in the ant-seed dispersal assemblage of the perennial herb *Helleborus foetidus* L.(Ranunculaceae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 92, 135-150.
- Marshall, D. L. (1991). Nonrandom mating in wild radish: Variation in pollen donor success and effects of multiple paternity among one-to six-donor pollinations. *American Journal of Botany*, 78, 1404-1418.
- Martínez, I., García, D., & Obeso, J. R. (2007). Allometric allocation in fruit and seed packaging conditions the conflict among selective pressures on seed size. *Evolutionary Ecology*, 21, 517-533.
- Mechlia, N. B., & Carroll, J. J. (1989). Agroclimatic modeling for the simulation of phenology, yield and quality of crop production. *International Journal of Biometeorology*, 33, 36-51.
- Michelakis, N. (1989). Yield response of table and oil olive varieties to different water use levels under drip irrigation. *International Symposium on Olive Growing*, 286, 271-274.
- Mossop, R., Macnair, M., & Robertson, A. (1994). Within-population variation in sexual resource allocation in *Mimulus guttatus*. *Functional Ecology*, 8, 410-418.

Nava, G., & Dechen, A. R. (2009). Long-term annual fertilization with nitrogen and potassium affect yield and mineral composition of 'Fuji' apple. *Scientia Agricola*, 66, 377-385.

Niesenbaum, R. (1999). The effects of pollen load size and donor diversity on pollen performance, selective abortion, and progeny vigor in *Mirabilis jalapa*. *American Journal of Botany*, 86, 261.

Obeso, J. (1998). Patterns of variation in *Ilex aquifolium* fruit traits related to fruit consumption by birds and seed predation by rodents. *Ecoscience*, 5, 463-469.

Olsen, S., & Sommers, L. (1982). Phosphorus. *Methods of Soil Analysis*, 2, 403-430.

Parciak, W. (2002). Environmental variation in seed number, size, and dispersal of a fleshy-fruited plant. *Ecology*, 83, 780-793.

Pearson, K. (1901). Mathematical contributions to the theory of evolution. IX. On the principle of homotyposis and its relation to heredity, to the variability of the individual, and to that of the race. Part I. Homotyposis in the Vegetable Kingdom. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 197, 285-379.

Peech, M., Alexander, L. T., Dean, L., & Reed, J. F. (1947). *Methods of soil analysis for soil-fertility investigations* Govern. Print. Office. New York.

Peters, R., Cloutier, S., Dube, D., Evans, A., Hastings, P., Kaiser, H., Kohn, D., & Sarwer-Foner, B. (1988). The allometry of the weight of fruit on trees and shrubs in Barbados. *Oecologia*, 74, 612-616.

Primack, R. (1987). Relationships among flowers, fruits, and seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 409-430.

Quaggio, J., Mattos, D., Cantarella, H., Almeida, E., & Cardoso, S. (2002). Lemon yield and fruit quality affected by NPK fertilization. *Scientia Horticulturae*, 96, 151-162.

Rey, P., Herrera, C., Guitián, J., Cerdá, X., Sánchez-Lafuente, A., Medrano, M., & Garrido, J. (2006). The geographic mosaic in predispersal interactions and selection on *Helleborus foetidus* (Ranunculaceae). *Journal of Evolutionary Biology*, 19, 21-34.

Sallabanks, R. (1992). Fruit fate, frugivory, and fruit characteristics: A study of the Hawthorn, *Crataegus monogyna* (Rosaceae). *Oecologia*, 91, 296-304.

Sallabanks, R. (1993). Hierarchical mechanisms of fruit selection by an avian frugivore. *Ecology*, 74, 1326-1336.

Sallabanks, R., & Courtney, S. P. (1993). On fruit-frugivore relationships: Variety is the spice of life. *Oikos*, 68, 567-570.

Schweingruber, F. H., & Poschlod, P. (2005). *Growth rings in herbs and shrubs: Life span, age determination and stem anatomy*. Swiss Federal Research Institute WSL.

Stanton, M. L. (1984). Seed variation in wild radish: Effect of seed size on components of seedling and adult fitness. *Ecology*, 65, 1105-1112.

Stokes, M., & Smiley, T. (1968). *An introduction to tree-ring dating*. University of Chicago Press, Chicago & London.

Thompson, J. N. (1994). *The coevolutionary process*. University of Chicago Press, Chicago.

Wang, Z. H., Li, S. X., & Malhi, S. (2008). Effects of fertilization and other agronomic measures on nutritional quality of crops. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 7-23.

Wender, B. W., Harrington, C. A., & Tappeiner, J. C. (2004). Flower and fruit production of understory shrubs in western Washington and Oregon. *Northwest Science*, 78, 124-140.

Wulff, R. D. (1986). Seed size variation in *Desmodium paniculatum*: II. Effects on seedling growth and physiological performance. *The Journal of Ecology*, 74, 99-114.

Zangerl AR, Berenbaum MR, DeLucia EH, Nitao JK (2003) Fathers, fruits and photosynthesis: pollen donor effects on fruit photosynthesis in wild parsnip. *Ecology Letters*, 6, 966-970.

Zar, J. H. (1999). *Biostatistical analysis*. Fourth edition. Prentice-Hall, London.

Zhang, X. S., & Hill, W. G. (2005). Evolution of the environmental component of the phenotypic variance: Stabilizing selection in changing environments and the cost of homogeneity. *Evolution*, 59, 1237-1244.

Anexo I. Resultados del análisis de componentes principales. Matriz de componentes seleccionados para reducir el número de parámetros en los modelos. A: autovalores y varianza explicada; B: Matriz de componentes de los factores extraídos.

A

Componentes	Autovalores	% Varianza	% Acumulado
1	3,324	47,481	47,481
2	1,829	26,128	73,610
3	0,608	8,689	82,298
4	0,520	7,434	89,733
5	0,466	6,663	96,396
6	0,199	2,847	99,242
7	0,053	0,758	100,000

B

	Componente 1 (Nutrientes del suelo)	Componente 2 (Acidez del suelo)
pH	-0,545	0,801
pH _{KCl}	-0,469	0,860
P ⁻ asimilable	0,780	0,222
Ca ²⁺	0,762	0,509
Mg ²⁺	0,787	0,067
Na ⁺	0,763	-0,015
K ⁺	0,644	0,367

Anexo II. Características de los árboles y de su ambiente edáfico en cada una de las poblaciones de estudio.

	Carucedo				Hospital			Mostad		
	año	media	d.t	n	media	d.t	n	media	d.t	n
Diámetro del fruto (mm)	2006	6,8	0,5	28	8,8	0,7	30	7,6	0,6	30
	2007	6,8	0,6	22	7,7	0,8	29	7,5	0,5	30
Longitud de semilla (mm)	2006	5,4	0,5	28	6,6	0,5	30	5,8	0,5	30
	2007	5,2	0,5	22	6,8	0,4	29	5,9	0,5	30
Diámetro del fruto (CV)	2006	10,5	2,2	28	8,2	1,8	30	9,8	2	30
	2007	9,7	2,7	22	8,9	2	29	8,6	1,7	30
Longitud de la semilla (CV)	2006	10,1	2,2	28	7,2	1,2	30	8,5	1,5	30
	2007	11,8	2,6	22	9,1	1,5	29	9,4	2,3	30
Cosecha (nº de frutos)	2006	546	751	28	710	649	30	568	500	30
	2007	514	675	22	550	514	29	522	453	30
% Agua del suelo (otoño)	2006	23,8	5,1	28	71,5	25,8	30	53,4	11	30
	2007	6,3	3,4	22	23,2	5,9	29	24,3	7,7	30
% Agua del suelo (primavera)	2006	22,5	6	28	45,6	21,6	30	26,2	8,5	30
	2007	11	1,8	22	66,7	24,8	29	62,8	10,1	30
P ⁻ asimilable (mg Kg ⁻¹)		1,5	1,8	25	5,9	4	29	3,2	3,1	30
Ca ²⁺ (mg Kg ⁻¹)		20,6	4,9	25	38,9	23,7	29	24,4	9,5	30
Mg ²⁺ (mg Kg ⁻¹)		0,7	0,4	25	3,4	1,6	29	1,5	0,6	30
Na ⁺ (mg Kg ⁻¹)		0,0	0,0	25	0,0	0,0	29	0,0	0,0	30
K ⁺ (mg Kg ⁻¹)		0,2	0,0	25	0,5	0,4	29	0,1	0,0	30
%C		3,2	0,5	10	9,6	3,7	10	7,6	1,4	10
%N		0,28	0,03	10	0,93	0,58	10	0,63	0,18	10
pH		7,90	0,20	28	6,78	0,43	30	6,71	0,38	30
pH _{KCl}		7,25	0,26	28	6,22	0,53	30	5,85	0,45	30
Edad (años)		25	6,1	25	33,5	9,8	29	25,8	9	30



**CAPÍTULO 4. FACTORES QUE AFECTAN A LA
VARIACIÓN GEOGRÁFICA DEL TAMAÑO DEL
FRUTO EN LAS POBLACIONES DE *Crataegus
monogyna***

Resumen

Las diferencias entre poblaciones del tamaño del fruto y de su variabilidad intra-individual podrían ser una respuesta a presiones selectivas así como un reflejo de la variación ambiental. El tamaño del fruto de *Crataegus monogyna* podría estar determinado por la selección ejercida por las aves dispersantes, por factores abióticos y por la correlación con el tamaño de la semilla. Analicé el efecto de estos factores sobre las diferencias del tamaño medio de los frutos y su variación producidos en cada árbol y en su variabilidad, en 13 poblaciones, a lo largo del gradiente latitudinal de distribución de la especie en Europa occidental. Los caracteres fenotípicos del tamaño del fruto difieren entre las poblaciones estudiadas y no están relacionadas ni con la latitud a la que se sitúan dichas poblaciones, ni con la precipitación que reciben durante la fase de formación y maduración del fruto. Las presiones de selección bióticas ejercidas por los dispersantes también fueron distintas entre poblaciones pero tampoco explicaron las diferencias en las variables fenotípicas analizadas. El único factor que explicó las diferencias de tamaño del fruto y su variabilidad fue el tamaño de la semilla, el cual se encuentra, a su vez, relacionado con los factores abióticos considerados. Mientras que la latitud explicó parte de las diferencias entre poblaciones en la longitud de las semillas, la precipitación fue responsable de parte de las diferencias en la variación intra-individual del mismo rasgo.

1. Introducción

Los resultados de las interacciones entre especies difieren habitualmente entre poblaciones debido a las diferencias en el ambiente físico, la estructura genética, la estructura demográfica y la comunidad en que ocurren estas interacciones. Estas diferencias crean un mosaico geográfico en el que la evolución de una especie es el resultado de las presiones de selección ejercidas localmente por el resto de especies que interaccionan y del flujo génico que existe entre las poblaciones (Thompson 1994). El paso de una escala regional a una escala geográfica amplia, que incluya una parte importante del área de distribución de las especies que interactúan, permite comprobar si una relación

muy intensa y recíproca en una localidad es un rasgo puntual o se mantiene a lo largo del área ocupada por dichas especies. Entre poblaciones muy distantes, se espera un menor flujo génico y, por lo tanto, menor grado de homogeneización ante presiones selectivas diferentes y mayor variabilidad en el ambiente físico.

En este contexto, la evolución del tamaño del fruto de *Crataegus monogyna* podría ser consecuencia de los resultados de las interacciones que la planta mantiene con los animales que consumen sus frutos y dispersan sus semillas en las diferentes poblaciones y del flujo génico entre ellas. Las diferencias de tamaño podrían deberse también a selección indirecta, a través de rasgos correlacionados, por ejemplo, a través del tamaño de la semilla. Además, podrían ser consecuencia de diferencias en el ambiente abiótico, las cuales afectarían al fruto durante su formación.

La interacción entre el espino albar y las aves que dispersan sus semillas podría tener consecuencias evolutivas si las presiones de selección que ejercen las aves sobre los rasgos de las plantas y que han sido descritas en los capítulos anteriores, se traducen finalmente en diferencias en el éxito reproductivo total de los individuos a lo largo de su vida. Aunque a nivel regional no he encontrado diferencias entre poblaciones en las presiones selectivas (Capítulo 3), éstas podrían diferir entre poblaciones alejadas. Los frutos de espino son dispersados desde el norte de Escocia hasta el Sur de España casi en exclusiva por tres especies de aves frugívoras: el zorzal alirrojo *Turdus iliacus*, el mirlo común *Turdus merula* y, en menor medida, el zorzal real *Turdus pilaris*. Hay, al menos, tres factores que podrían traducirse en diferentes regímenes de selección a lo largo del gradiente geográfico en el que se relacionan las aves y la planta. En primer lugar, el porcentaje que representa el mirlo en la tasa total de dispersión de semillas de la especie, tiende a crecer frente al papel del zorzal alirrojo a medida que las localidades se encuentran más al sur (Gutián et al. 2000). Las diferencias de tamaño entre estas especies podrían dar lugar a presiones selectivas diferentes sobre el tamaño de frutos y semillas. En segundo lugar las especies podrían diferir en el tipo de microhábitats que visitan después del consumo de frutos, lo que podría tener implicaciones en los procesos de depredación y germinación de semillas y en el establecimiento de nuevos individuos (Herrera et al. 1994, Schupp y Fuentes 1995). En tercer lugar, las

diferencias de comportamiento social de las aves, entre el paso migratorio y la invernada, podrían tener también efecto en la selección que las aves hacen de los frutos. Por lo tanto, la variación entre poblaciones en los tamaños del fruto y de la semilla y de sus variabilidades intra-individuales (Herrera 2009) podría indicar adaptación local, por supuesto, siempre y cuando estos caracteres sean hereditarios. La heredabilidad del tamaño de la semilla (Mazer 1987, Verhoeven et al. 2004) y la heredabilidad del tamaño del fruto (Wheelwright 1993) ya han sido documentadas. Sin embargo, aunque teóricamente la variabilidad intra-individual podría ser genéticamente transmisible (véase Herrera 2009), el único estudio que conozco que ha abordado este aspecto no ha encontrado una heredabilidad significativa en este rasgo (Castellanos et al. 2008).

El tamaño de fruto también podría estar determinado por selección indirecta, es decir, selección ejercida sobre caracteres correlacionados, como por ejemplo el tamaño de la semilla. En el espino blanco, existe una correlación positiva y significativa entre el tamaño del fruto y el tamaño de la semilla, tanto a nivel de las semillas individuales como de los fenotipos maternos (Capítulo 2). La integración fenotípica, o correlación entre los caracteres, es consecuencia de conexiones genéticas, patrones compartidos en el desarrollo o conexiones funcionales entre los rasgos (p.e. Pigliucci y Preston 2004). Por otro lado, existen limitaciones en la evolución adaptativa de los rasgos debidas a las correlaciones genéticas entre ellos (Agrawal y Stinchcombe 2009). Para que una restricción tenga consecuencias ecológicas tiene que afectar al rasgo adaptativo. Amzallag (2000) documentó que la heredabilidad de un rasgo disminuye con su nivel de conectividad (una medida de integración fenotípica) e hipotetizó que las uniones entre rasgos generan un ruido en el desarrollo que interfiere en la expresión de la información genética. La correlación fenotípica entre tamaño de fruto y de semilla podría tener implicaciones evolutivas importantes, si existe una buena correlación entre correlaciones fenotípicas y genotípicas.

Finalmente, el tamaño del fruto y de la semilla y su variación intra-individual podrían estar influidos por factores abióticos a nivel de población (véase Capítulo 3). De hecho, los patrones geográficos en la variación del tamaño de semilla, sugieren que las características climáticas que varían

sistemáticamente con la latitud, como por ejemplo, la temperatura, la radiación solar o las precipitaciones, podrían jugar un papel destacado en las variaciones geográficas del peso de la semilla (Murray et al. 2004). Por ejemplo, la radiación solar se ha relacionado con el tamaño del fruto (Connor et al. 2009) y de las semillas (Murray et al. 2004) debido al incremento de la disponibilidad de fotosintato. La latitud, por otro lado, también es un indicador de las condiciones de temperatura y radiación solar, las cuales podrían estar relacionadas, a su vez, con el peso de la semilla a nivel intra e inter-específico. Murray et al. (2004) probaron que al controlar el efecto de la temperatura y de la radiación, la latitud perdía la mayor parte del efecto sobre el peso de las semillas. Además, existen otros factores que podrían variar geográficamente e influir en el gradiente latitudinal del tamaño de la semilla, como, por ejemplo, la disponibilidad de nutrientes del suelo (ver Capítulo 3) o la interacción con depredadores pre y post-dispersivos. En definitiva, la latitud puede estar reflejando tanto variaciones en las características abióticas de la población como variaciones en las características bióticas. Moles et al. (2003) han documentado la tendencia general, del aumento del tamaño de la semilla hacia el ecuador, tanto a nivel intra-específico como inter-específico.

En este capítulo, estudié, a una escala geográfica amplia, el efecto que podrían tener la latitud, la precipitación, las presiones de selección ejercidas por las aves dispersantes y el tamaño de la semilla, sobre el tamaño del fruto y la variabilidad intra-individual del mismo en las plantas madre. Para ello, analicé las diferencias entre 13 poblaciones distribuidas a lo largo del gradiente latitudinal de distribución de la especie en Europa occidental. Por otro lado, cuantifiqué, al mismo nivel, el efecto de las precipitaciones, la latitud y las presiones ejercidas por los dispersantes sobre el tamaño de semilla y su variación.

Las hipótesis puestas a prueba fueron: (1) Existen diferencias entre poblaciones en los tamaños y variabilidad de los frutos y las semillas a lo largo del gradiente estudiado. (2) Existen diferencias entre poblaciones en las presiones selectivas ejercidas sobre los tamaños y la variabilidad de los frutos y las semillas a lo largo del gradiente estudiado (3) Las diferencias en el tamaño medio del fruto, así como en su variabilidad, están relacionadas con las presiones selectivas ejercidas por las aves dispersantes, con las condiciones de

precipitación, con la latitud y con el tamaño de la semilla. (4) A su vez, el tamaño de la semilla y su variabilidad están determinados por las diferencias que existen entre poblaciones para estos mismos factores.

2. Métodos

2.1. Muestreo de los frutos

Seleccioné 13 poblaciones de *Crataegus monogyna* a lo largo de casi todo el rango latitudinal de distribución de la especie en Europa occidental. La poblaciones seleccionadas fueron las siguientes: Salamanca (España 40°52'N, 5°33'O), Mostad (España 42°37'N, 7°09'O), Salies-de-Béarn (Francia 43°27'N, 0°54'O), Yves (Francia 46°09'N, 0°56'O), Vengeons (Francia 48°40'N, 1°16'O), Nesle (Francia 49°55'N, 1°41'O), Hay on Wye (Gales 52°02'N, 3°06'O), Bronaber (Gales 52°50'N, 3°54'O), Eastriggs (Escocia 54°59'N, 3°10'O), Eyemouth (Escocia 55°52'N, 2°8'O), Barcaldine (Escocia 56°31'N, 5°18'O), Stonehaven (Escocia 56°57'N, 2°09'O) y Aberscross (Escocia 57°58'N, 4°06'O) (véase Fig. 1). Entre el 1 y el 19 de octubre de 2007, cuando la mayor parte de los frutos permanecen todavía en los árboles porque aún no han sido consumidos por las aves dispersantes (Gutián et al. 2000), seleccioné y marqué 25 árboles en cada población, medí su diámetro, con el objetivo de estimar el área bajo la copa, y estimé el tamaño de cosecha mediante conteo *in situ*. En cada árbol marqué 5 ramas y conté sus frutos. Marqué también tres áreas de 0,5*0,5 m bajo cada árbol, para estimar el número de frutos caídos durante los dos meses que duró el experimento y recogí una muestra de 25 frutos, para medir el tamaño medio del fruto y la semilla y sus variaciones. Posteriormente, medí la longitud y diámetro de los frutos y semillas recolectados de los 325 árboles (8125 frutos y semillas), con un calibre de precisión de 0,01 mm. Los árboles en los cuales más del 5% de los frutos medidos contenían dos semillas fueron excluidos del estudio ya que podría tratarse de híbridos de *Crataegus monogyna* con *Crataegus laevigata* (Lang 1987).

En una segunda visita a todas las poblaciones, entre el 1 y el 18 de Diciembre de 2007, una vez pasado el grueso del consumo de frutos de espino a lo largo de todo el gradiente de estudio (Gutián et al. 2000), conté el número de frutos que permanecían en las ramas marcadas de cada árbol y conté también todos los frutos que se encontraban en las áreas marcadas bajo cada copa. En la segunda visita encontré que 7 árboles de la población de Hay on Wye y 12 árboles de la población de Vengeons habían sido talados, por lo que el número final de árboles utilizados en este estudio fue de 271 (Anexo I). Hay que tener en cuenta que *Crataegus monogyna* se utiliza comúnmente como seto en las lindes de campos dentro de su rango de distribución natural. Por un lado, estos setos en muchos casos son resultado de antiguas manchas de vegetación (Gutián et al. 2000). Además, considerando que esta especie está distribuida de manera natural a través de Europa (Christensen 1992) y que para su utilización ornamental no se precisan genotipos específicos, es probable que en el campo sólo se haya plantado material local y por lo tanto no se haya modificado la estructura filogeográfica (Fineschi et al. 2005). A pesar de ello, he repetido los análisis de este capítulo, realizados originalmente para las trece poblaciones seleccionadas, utilizando exclusivamente nueve de ellas, es decir, descartando las poblaciones con indicios de que los árboles pudiesen haber sido plantados. Los resultados de estos análisis fueron equivalentes, por lo que muestro aquí los resultados obtenidos del análisis de todas las poblaciones.

Obtuve los datos de la precipitación de las 13 poblaciones estudiadas, a partir del archivo de la National Oceanic and Atmospheric Administration de EEUU (NOAA), los cuales se encuentran disponibles en la página web de dicho organismo (<http://www.cdc.noaa.gov:80/USclimate/>). A partir de estos datos, realicé varios análisis exploratorios probando las relaciones entre las precipitaciones y las variables estudiadas, finalmente calculé la precipitación acumulada entre abril y septiembre de 2007 para su inclusión en los análisis. Durante estos meses se forman y maduran los frutos de esta especie y, por tanto, la disponibilidad de agua en este período podría ser un factor crítico para el tamaño de frutos y semillas.



Figura 1. Mapa de situación de las poblaciones de *Crataegus monogyna* estudiadas. En gris, se marcan los límites latitudinales de la distribución del espino en Europa (Lang 1987).

2.2. Cálculo de la eficacia reproductiva relativa de cada árbol

Estimé la eficacia absoluta de dispersión de cada árbol como el número de semillas dispersadas:

$$D_a = I_a - F_a - G_a ,$$

donde I_a es el número de frutos inicial en el árbol, F_a el número de frutos final y G_a el número de frutos caídos bajo cada copa durante el periodo de estudio. El número de frutos finales y caídos para cada árbol se estimó de manera análoga a como se detalla en el capítulo 2.

Definí la eficacia relativa de dispersión del árbol, como la razón entre el número de semillas dispersadas de dicho árbol y el número medio de semillas dispersadas por árbol para el conjunto de todas las poblaciones:

$$w = n * D_a / \sum_a D_a ,$$

donde n es el número total de árboles estudiados ($n = 271$).

2.3. Análisis estadísticos

2.3.1. Análisis de las diferencias del tamaño de fruto entre poblaciones

La selección ejercida por parte de las aves dispersantes parece dirigirse principalmente hacia el diámetro del fruto y hacia la longitud de la semilla (véase Capítulo 2), por lo que utilicé estos rasgos y sus variabilidades intra-individuales para los análisis del presente capítulo, descartando el uso de la longitud del fruto y la anchura de la semilla. Cuantifiqué la variabilidad intra-individual de los tamaños de frutos y semillas mediante el coeficiente de variación (CV) de estos caracteres, ya que la varianza y la desviación típica son dependientes de la escala y, por tanto, no pueden ser usados apropiadamente para comparar niveles de variabilidad (Pearson 1901, Zar 1999).

Para detectar variaciones entre poblaciones en los caracteres fenotípicos estudiados, realicé cuatro Modelos Lineales Mixtos (LMM) con heterogeneidad de pendientes, uno para cada variable respuesta de interés (diámetro de fruto y su CV y longitud de semilla y su CV), con el factor *población* como factor aleatorio y el *tamaño de cosecha* como covariable.

2.3.2. Análisis de las diferencias de la selección fenotípica entre poblaciones

Debido a que el objetivo de este capítulo fue relacionar las presiones de selección con las características fenotípicas a nivel de población, me he interesado únicamente por las presiones de selección totales (S) y no he medido los gradientes de selección directa. Para analizar las diferencias en los coeficientes de selección total (S) sobre el tamaño del fruto y de la semilla recurrí al uso de LMM, con la *eficacia relativa* de cada árbol como variable respuesta y cada una de las variables fenotípicas de tamaño de fruto y semilla como variables independientes. Incluí la *población* como factor aleatorio, así como su interacción con cada variable fenotípica, para probar la hipótesis nula de que no hay diferencias en los coeficientes de selección total entre poblaciones. Los coeficientes de selección fueron debidamente estandarizados para los análisis posteriores. Este modo de calcular los coeficientes de selección es equivalente al cálculo mediante regresiones simples de Lande y Arnold (1983), pero la inclusión del factor *población* permite analizar también las diferencias en los coeficientes de selección entre poblaciones.

2.3.3. Análisis de los factores que afectan al tamaño y a la variabilidad del fruto al nivel de población

Para analizar los factores que afectan a los caracteres fenotípicos de las poblaciones de *Crataegus monogyna*, realicé dos Modelos Lineales Mixtos (LMM), utilizando el *diámetro de fruto* y su *variabilidad intra-individual* como variables respuesta. Incluí la *población* como factor aleatorio en ambos casos. Como covariables incluí la *cosecha*, la *longitud de la semilla* y su CV, la *latitud*, la *precipitación* acumulada entre abril y septiembre en 2007 y el *coeficiente de selección total (S)* ejercida por la aves dispersantes sobre el diámetro del fruto. Incluí las interacciones del factor *población* con la *cosecha* y con la *longitud de*

semilla y su CV. No incluí la selección total sobre la variabilidad del diámetro del fruto, porque este rasgo no presentó diferencias entre poblaciones (véase la sección de resultados). Estos modelos completos fueron reducidos, excluyendo una a una las variables con una $p > 0,25$.

2.3.4. Análisis de los factores que afectan al tamaño y a la variabilidad de semilla al nivel de población

Con el objeto de detectar posibles efectos indirectos del tamaño de la semilla sobre el tamaño del fruto, repliqué el análisis realizado para el tamaño del fruto, utilizando la *longitud de la semilla* y su *variación* como variables respuesta. En este análisis se incluyeron como factores explicativos las *precipitaciones* y la *latitud*, así como la *selección total* ejercida por las aves dispersantes sobre la variabilidad intra-individual de la longitud de semilla. De nuevo incluí la *cosecha* para controlar otros posibles efectos indirectos. No incluí la selección sobre la longitud de semilla, ya que resultó constante entre poblaciones (véase la sección de resultados). Los modelos fueron reducidos, excluyendo una a una las variables con una $p > 0,25$.

3. Resultados

3.1. Variación fenotípica de frutos y semillas entre poblaciones.

Los resultados muestran diferencias significativas de los tamaños y de la variabilidad intra-individual de frutos y semillas entre las 13 poblaciones estudiadas (Tabla 1, Fig. 2). Dentro de población, las diferencias entre árboles en el coeficiente de variación fueron mayores que las diferencias en los valores medios de los tamaños de frutos y semillas. El análisis mostró también que el tamaño de cosecha de los árboles de cada una de las poblaciones, incluido como covariable para controlar sus posibles efectos, no afectó a ninguno de los rasgos medidos. (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados de los LMMs realizados para detectar diferencias entre poblaciones en las variables fenotípicas estudiadas.

Variable respuesta	Efecto	gl	F	p
Diámetro del fruto	Cosecha	1; 257	0,07	0,79
	Población	12; 257	10,03	0,00
CV diámetro del fruto	Cosecha	1; 257	0,35	0,56
	Población	12; 257	2,75	0,00
Longitud de la semilla	Cosecha	1; 233	0,10	0,75
	Población	12; 233	5,99	0,00
CV longitud de la semilla	Cosecha	1; 233	0,01	0,92
	Población	12; 233	3,20	0,00

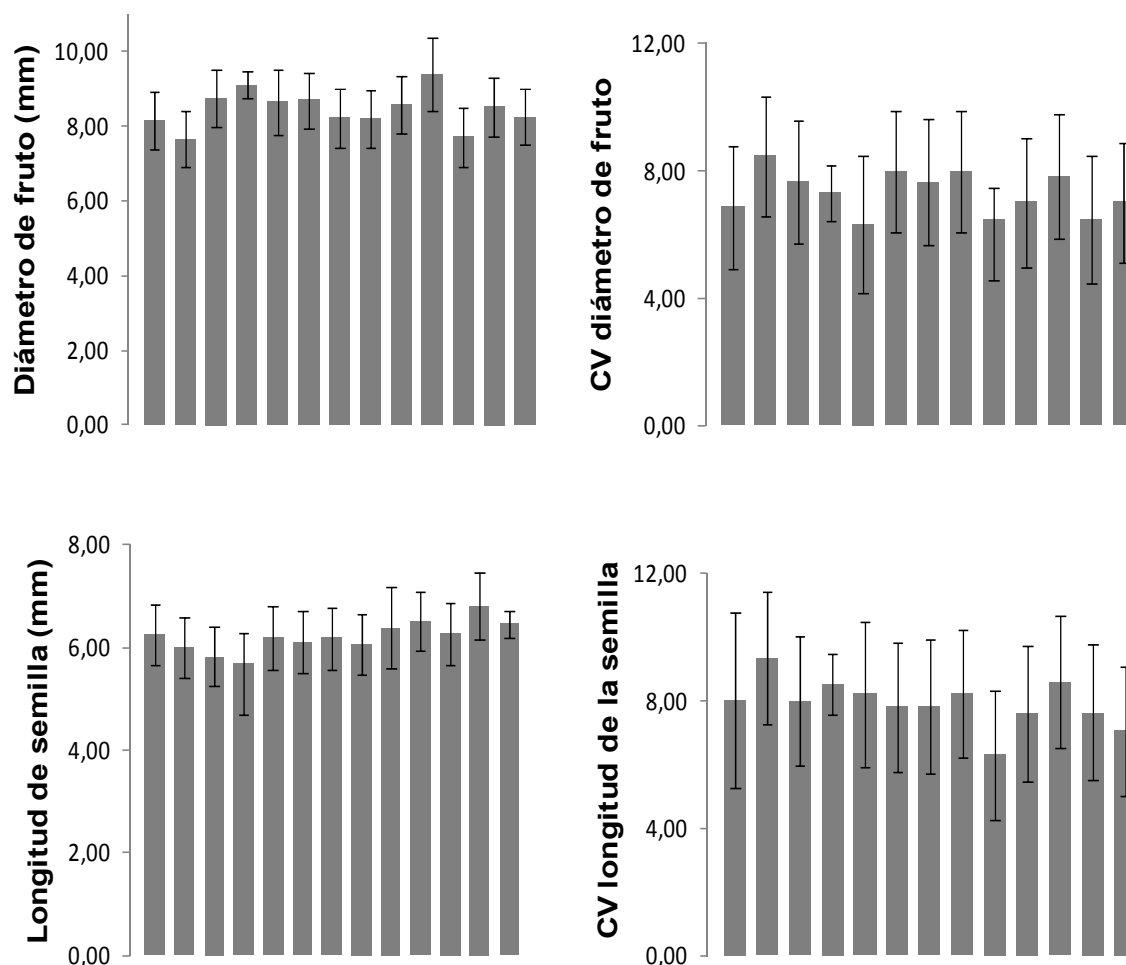


Figura 2. Medias estimadas de las variables fenotípicas del fruto y de la semilla en las diferentes poblaciones estudiadas. Las líneas indican el intervalo de confianza. Las poblaciones están ordenadas de izquierda a derecha, de menor a mayor latitud: 1 Salamanca, 2 Mostad, 3 Salies-de-Bearn, 4 Yves, 5 Vengeons, 6 Nesle, 7 Hay on Wye, 8 Bronaber, 9 Eastriggs, 10 Eyemouth, 11 Barcaldine, 12 Stonehaven, 13 Aberscross.

3.2. Variación de la selección fenotípica entre poblaciones

Los resultados muestran que las presiones de selección total (S) ejercidas por las aves dispersantes fueron diferentes entre poblaciones para algunas de las variables de tamaño consideradas, pero no para otras. En concreto, para los frutos, hubo diferencias significativas en la selección total sobre el diámetro medio, pero no sobre su variación. En las semillas, únicamente

hubo diferencias en las presiones de selección sobre la variación de su longitud (Tabla 2, Anexo II).

Tabla 2. Resultados de los Modelos Lineales Mixtos (LMM) realizados para identificar diferencias entre poblaciones en las presiones de selección total (S) ejercidas por los dispersantes. La variable respuesta fue, en todos los casos, la eficacia relativa de dispersión.

	gl	F	p
Población	12; 245	3,46	0,000
Diámetro fruto	1; 245	0,33	0,565
Población * Diámetro fruto	12; 245	3,02	0,001
Población	12; 221	1,40	0,165
Longitud semilla	1; 221	0,01	0,909
Población * Longitud semilla	12; 221	1,24	0,259
Población	12; 245	1,05	0,407
CV _{diámetro fruto}	1; 245	1,05	0,306
Población * CV _{diámetro fruto}	12; 245	1,23	0,263
Población	12; 221	1,44	0,151
CV _{longitud semilla}	1; 221	0,00	0,987
Población * CV _{longitud semilla}	12; 221	2,18	0,013

3.3. Factores que afectan al tamaño del fruto y a su variabilidad intra-individual al nivel de población

Al nivel de población, el tamaño medio del fruto producido por los árboles está relacionado con diferencias en el tamaño y en la variabilidad intra-individual de la semilla. Así, las poblaciones cuyos árboles tienen semillas de mayor tamaño tienen también frutos mayores, mientras que los frutos pequeños están relacionados con semillas de tamaños más variables. Por otro lado, hubo una relación positiva entre la variabilidad intra-individual del fruto y la de la semilla (Tabla 3, Figs 3, 4 y 5). Ni la latitud, ni la precipitación, ni las presiones de

selección ejercidas por las aves dispersantes, mostraron efectos sobre el tamaño del fruto.

El tamaño de la semilla y su variación no parecen estar condicionados por las presiones de selección ejercidas por los dispersantes (Tabla 3). Por tanto, los dispersantes tampoco tienen efecto sobre el tamaño de fruto de manera indirecta a través de la semilla. Sin embargo, nuestros resultados sugieren que las características abióticas podrían ser responsables de los rasgos de las semillas, dado que el gradiente latitudinal explica parte de las diferencias en la longitud de la semilla al nivel de población, así, los árboles de las poblaciones más norteñas produjeron semillas de mayor tamaño. Además, las semillas han resultado más homogéneas en los árboles de las poblaciones que recibieron más precipitación entre septiembre y abril en el año de estudio (Tabla 3, Figs 6 y 7).

Tabla 3. Resultado de los Modelos Lineales Mixtos (LMM) realizados al objeto de (1) analizar la influencia del tamaño de semilla, la precipitación, la latitud y la selección ejercida por las aves dispersantes, sobre los tamaños y variabilidades intra-individuales de los frutos y (2) analizar la influencia de la precipitación, la latitud y la selección ejercida por las aves dispersantes, sobre los tamaños y variabilidades intra-individuales de las semillas. Los efectos con $p > 0,25$ fueron eliminados del modelo.

Variable respuesta	Efecto	gl	F	p
Diámetro del fruto	Longitud de semilla	1 221,27	29,90	0,00
	CV longitud de la semilla	1 217,02	5,84	0,02
CV diámetro del fruto	Longitud de semilla	1 196,12	1,32	0,25
	CV longitud de la semilla	1 224,93	55,85	0,00
Longitud de la semilla	Latitud	1 9,20	14,51	0,00
CV longitud de la semilla	Precipitación	1 11,36	4,81	0,05

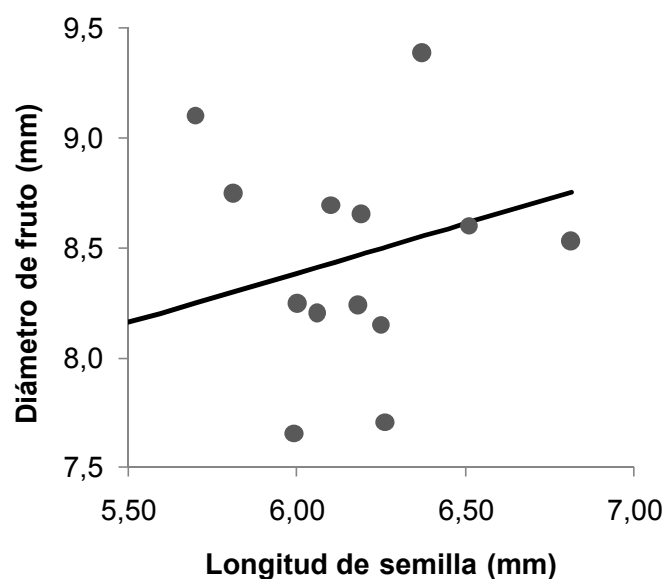


Figura 3. Pendiente estimada a partir del LMM realizado y valores observados de la relación entre la longitud de la semilla y el diámetro medio del fruto por árbol en las 13 poblaciones estudiadas.

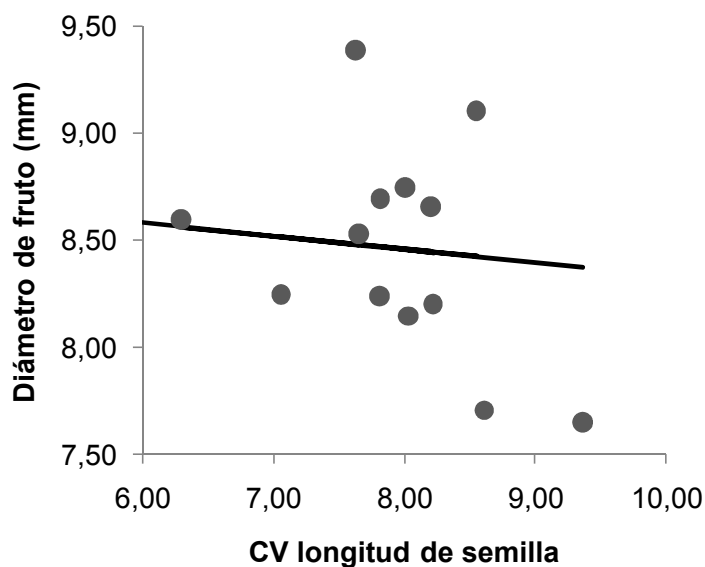


Figura 4. Pendiente estimada a partir del LMM realizado y valores observados de la relación entre la variación intra-individual de la longitud de la semilla y el diámetro medio del fruto en las 13 poblaciones estudiadas.

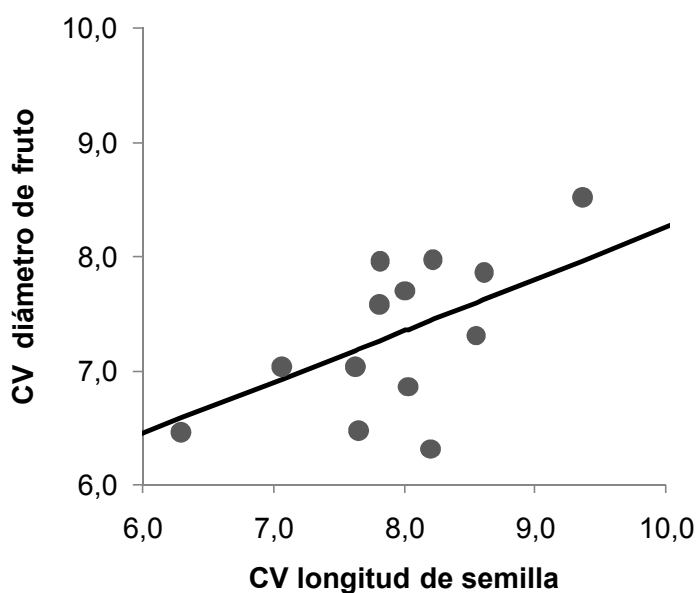


Figura 5. Pendiente estimada a partir del LMM realizado y valores observados de la relación entre la variabilidad intra-individual de la longitud de la semilla y la variabilidad intra-individual del diámetro del fruto en las 13 poblaciones estudiadas.

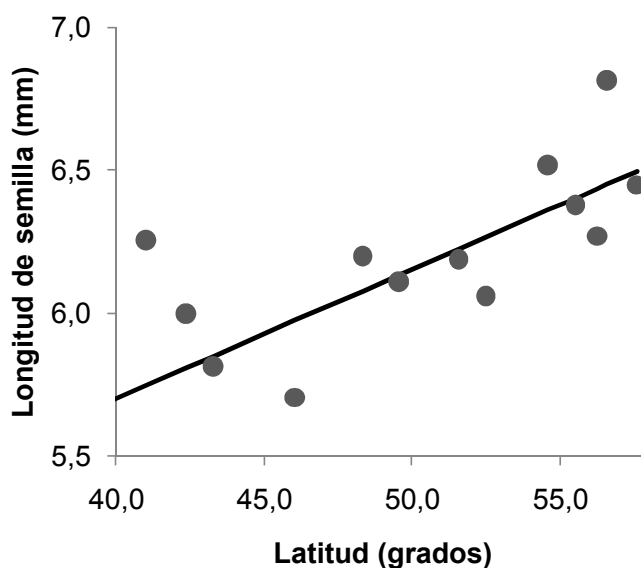


Figura 6. Pendiente estimada a partir del LMM realizado y valores observados de la relación entre la latitud y la longitud media de la semilla por árbol en las 13 poblaciones estudiadas.

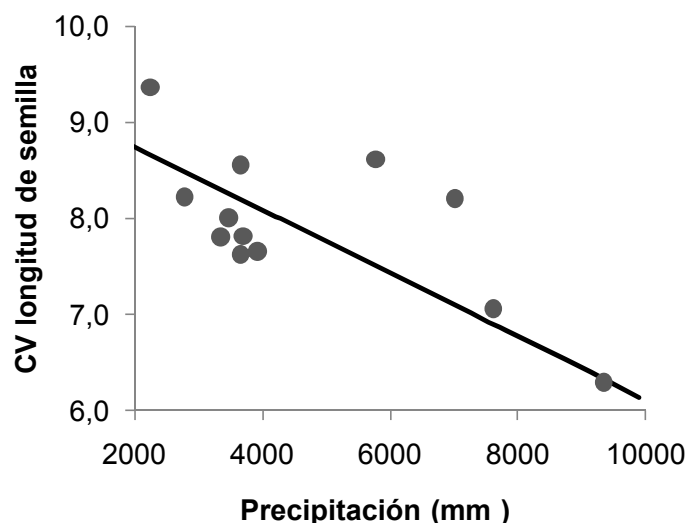


Figura 7. Pendiente estimada a partir del LMM realizado y valores observados de la relación entre la precipitación acumulada desde abril a septiembre de 2007 y la variación intra-individual de la longitud de semilla en las 13 poblaciones estudiadas.

4. Discusión

Al nivel de las plantas madre, tanto el tamaño medio del fruto de cada árbol como su variabilidad, resultaron diferentes entre las 13 poblaciones estudiadas. Sin embargo, las presiones de selección ejercidas por las aves dispersantes, la latitud, y las precipitaciones, no tuvieron efecto sobre estos rasgos. Nuestros resultados sugieren también que el tamaño y la variabilidad intra-individual del fruto estuvieron determinados por la correlación con las características de las semillas. Por otro lado, los análisis muestran la influencia de las variables latitud y precipitación, sobre las características de las semillas y, en consecuencia, sobre las características de los frutos de una manera indirecta, a través de la correlación citada

A pesar de que el gremio de frugívoros que dispersan las semillas de *Crataegus monogyna* está compuesto por las mismas especies a lo largo del rango de distribución de la planta (Gutián et al. 2000), he encontrado diferencias entre poblaciones en las presiones de selección, sobre algunos de los rasgos

analizados. Las diferencias podrían estar relacionadas, por una parte, con el hecho de que el papel proporcional que representa cada especie en el gremio de dispersantes de la planta, varía entre poblaciones y de que existen ciertas diferencias morfológicas y de comportamiento entre las especies. Estas diferencias podrían traducirse en diferentes formas de selección y tratamiento de los frutos y las semillas. Así, por ejemplo, el mirlo es responsable del consumo de una mayor proporción de frutos en las poblaciones más meridionales (Guitián et al. 2000), lo que podría tener implicaciones en las presiones de selección derivadas de diferencias de comportamiento y de tamaño. En primer lugar, el mirlo es un migrante parcial, con poblaciones que permanecen en sus lugares de cría todo el año, mientras que los zorzales que se alimentan de frutos de espino tienen un comportamiento migrante mucho más acusado. Es posible que estas diferencias tengan efectos sobre la selección fenotípica que realizan, ya que las aves en migración sufren un importante estrés energético y, en esas condiciones, minimizar el tiempo de alimentación puede ser vital, disminuyendo así su capacidad de seleccionar frutos. En segundo lugar, en la época de fructificación del espino, los mirlos se alimentan en grupos muy reducidos o de manera individual, mientras que los zorzales lo hacen, por lo general, en grupos de mayor tamaño. La variación en el número de aves que acceden a una misma planta de espino, por ejemplo, podría ser responsable de cambios en la manera en que se seleccionan y consumen los frutos debido a interacciones entre los individuos cuando es un bando el que se alimenta en el árbol. (ver al respecto Guitián et al. 2000). En tercer lugar, las diferencias de tamaño del mirlo con respecto a los zorzales pequeños (*Turdus iliacus*, *Turdus philomelos*) son importantes. Por otro lado, aunque no se dispone de suficientes datos sobre la competencia por los frutos de espino en el área de distribución de la planta, hay indicios de que podrían existir variaciones geográficas en las relaciones de dominancia que se puedan establecer entre especies de distinto tamaño. Por ejemplo, se ha documentado la defensa de plantas de espino, por parte de *Turdus viscivorus*, frente a zorzales más pequeños y a mirlos, como un hecho común en algunas localidades de Gales e Inglaterra, mientras que no hay una sola observación de este comportamiento en las localidades del noroeste de España, de las que sin embargo, existe mucha más información sobre la planta y los frugívoros (Guitián et al. 2000, J. Guitián, observaciones personales). Parece

entonces que pequeñas diferencias espaciales en la composición del gremio y en el comportamiento de las aves podrían traducirse en diferencias de las presiones selectivas a lo largo del gradiente estudiado. Finalmente, no debemos olvidar que si las preferencias de las aves fueran constantes, las diferencias entre poblaciones en el tamaño del fruto darían lugar a diferencias en las presiones de selección.

La variación temporal y espacial en las presiones de selección es bien conocida (por ejemplo, Manzaneda et al. 2007, Ågren et al. 2008). Una limitación importante, derivada de esta variación temporal en las presiones de selección, es que los fenotipos medidos en el presente son consecuencia de las presiones selectivas pasadas. Sin embargo, las presiones de selección actuales podrían no ser las mismas que las que modelaron los fenotipos existentes hoy en día. Esta es una limitación que es necesario asumir ya que no existe una aproximación metodológica, que yo conozca, que resuelva este conflicto.

En cuanto al fenotipo de las semillas, otros estudios han encontrado variación intra-específica del tamaño a una escala espacial amplia, encontrando diferencias entre poblaciones que han sido atribuidas a diferenciación genética (e.g. Greipsson y Davy 1995) o a diferencias en las condiciones ambientales (Winn y Gross 1993). Además, la selección sobre el tamaño de la semilla se ha probado bastante variable entre poblaciones (Susko y Lovett-Doust 2000). Por otra parte, está documentado, tanto dentro como entre especies, que el tamaño de la semilla aumenta hacia el ecuador (Moles et al. 2003, Murray et al. 2004), aunque también se han encontrado patrones opuestos. Por ejemplo, Mc Williams et al. (1968) encontraron, en *Amaranthus retroflexus* de Norte-América, mayores tamaños de semilla en poblaciones situadas a mayores latitudes, lo que interpretaron como un efecto de la ventaja adaptativa de las semillas de gran tamaño para germinar a bajas temperaturas. De hecho, sus experimentos de laboratorio apoyaron esta interpretación, ya que las semillas que maduraron en condiciones de bajas temperaturas aumentaron de tamaño alrededor de un 20%. Los resultados que muestro aquí contradicen la tendencia general señalada, y sugieren el aumento de la longitud de la semilla de espino blanco con la latitud.

Aunque la relación entre el tamaño de los frutos y la disponibilidad de agua existe al nivel de árbol (véase Capítulo 3), no he encontrado, al nivel de población, ninguna relación entre las precipitaciones y los rasgos de los frutos, medidos en el año de estudio. Las precipitaciones tampoco explicaron las diferencias en el tamaño de la semilla pero sí su variabilidad. Mis resultados corresponden únicamente a una temporada de fructificación y, por lo tanto, tienen limitaciones obvias, habida cuenta de que el factor estudiado está sujeto a importantes variaciones interanuales. En cualquier caso, el efecto de la cantidad de agua caída durante el periodo de formación del fruto y de la semilla sobre la variabilidad, podría deberse a un aumento de la competencia entre las semillas por los recursos de la planta madre, por ejemplo, en condiciones de menos recursos hídricos (véase Mock y Parker 1998) derivando en una mayor variabilidad intra-individual (Bañuelos y Obeso 2003). Además la escasez de recursos podría incrementar los efectos de la inestabilidad del desarrollo, la cual es una de las causas de la variabilidad intra-individual en plantas (véase Herrera 2009 y referencias ahí citadas).

La variación fenotípica encontrada entre poblaciones también podría ser debida a presiones selectivas diferentes a las medidas aquí. Así, pueden existir presiones de selección fenotípica ejercidas en otros momentos del ciclo vital de las plantas, las cuales podrían incluso ser conflictivas (es decir, el mismo valor del rasgo podría resultar óptimo en un momento del ciclo vital del individuo pero no en otro; por ejemplo, Martínez et al. 2007) y podrían variar de intensidad y dirección entre poblaciones. Lázaro y Traveset (2007) encontraron que las presiones de selección que actúan sobre el tamaño de la semilla de *Buxus balearica* son conflictivas y además varían entre poblaciones, provocando que la selección fenotípica y el fenotipo óptimo difieran entre poblaciones. De hecho, se ha comprobado que el tamaño de la semilla está relacionado con presiones de selección en otras etapas del ciclo reproductivo de las plantas, como pueden ser las ejercidas por los depredadores de semillas (véase Martínez et al. 2007, para *Crataegus monogyna*), por el ambiente de la semilla en el momento de la germinación (por ejemplo Zhang and Maun 1991, Moegenburg 1996) o por las condiciones de la plántula durante su crecimiento y supervivencia (por ejemplo Winn 1988, Tripathi and Khan 1990, Wood and Morris 1990). Dependiendo de la

importancia relativa local de estas presiones de selección, la selección total a que está sometido el tamaño de semilla y su fenotipo óptimo podrían variar entre poblaciones.

Las diferencias fenotípicas del tamaño del fruto también podrían explicarse por efectos causados por depredadores pre-dispersivos de pulpa y de semillas y por patógenos, siempre que tengan efectos relacionados con el tamaño de fruto. Sin embargo, es poco probable que el efecto de las aves depredadoras sea importante en este sistema. Guitián et al. (2000) encontraron que la depredación de pulpa por aves podría afectar tan sólo a un 0,9 % de los frutos y no encontraron depredación pre-dispersiva de semillas a lo largo de su área de distribución en Europa occidental, si se exceptúa a la ardilla gris (*Sciurus carolinensis*), la cual puede tener, localmente, una importancia relevante. El picogordo (*Coccothraustes coccothraustes*), se ha citado repetidamente como depredador de semillas de espino (ver Guitián et al. 2000) pero tan solo ha aparecido, y como especie ocasional, en las localidades del sur del gradiente estudiado (J. Guitián, observaciones personales).

Otra hipótesis alternativa, que no he estudiado aquí, es la historia filogeográfica de la especie. Las diferencias fenotípicas entre poblaciones podrían tener que ver con las relaciones genéticas entre poblaciones debidas a los procesos de recolonización post-glacial. El nivel de diferenciación genética entre poblaciones de *Crataegus monogyna* es bajo comparado con otras especies de rosáceas, y esto ha sido atribuido por Fineschi et al. (2005) a un sistema de dispersión de semillas altamente eficiente, que evita la diferenciación adaptativa entre poblaciones a través de un flujo génico elevado. Esto es debido a que el flujo génico entre poblaciones puede contrarrestar los cambios en las frecuencias génicas debidos a la selección, imponiendo un límite natural a la adaptación local (Lenormand 2002).

Como conclusión, los resultados sugieren que las diferencias entre poblaciones en los tamaños de los frutos se deben a la correlación con las diferencias en los tamaños de las semillas. Asimismo, es probable que la latitud y la precipitación afecten de manera indirecta al tamaño de fruto medio

producido por los árboles de una población, a través de la correlación con el tamaño de semilla. La selección ejercida por las aves dispersantes no parece determinar las diferencias fenotípicas encontradas entre las 13 poblaciones de espino situadas a lo largo del gradiente estudiado, pero es posible que las presiones de selección ejercidas durante otras etapas del ciclo vital de la planta puedan determinar estas diferencias. En el siguiente capítulo abordo el efecto de las presiones de selección post-dispersivas sobre el tamaño del fruto y de la semilla.

5. Referencias

- Agrawal, A. F., & Stinchcombe, J. R. (2009). How much do genetic covariances alter the rate of adaptation. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, 276, 1183-1191.
- Ågren, J., Ehrlén, J., & Solbreck, C. (2008). Spatio-temporal variation in fruit production and seed predation in a perennial herb influenced by habitat quality and population size. *Journal of Applied Ecology*, 96, 334-345.
- Amzallag, G. (2000). Connectance in Sorghum development: Beyond the genotype–phenotype duality. *BioSystems*, 56, 1-11.
- Bañuelos, M., & Obeso, J. (2003). Maternal provisioning, sibling rivalry and seed mass variability in the dioecious shrub *Rhamnus alpinus*. *Evolutionary Ecology*, 17, 19-31.
- Castellanos, M., Medrano, M., & Herrera, C. (2008). Subindividual variation and genetic versus environmental effects on seed traits in a European *Aquilegia*. *Botany*, 86, 1125-1132.
- Christensen, K. I. (1992). Revision of *Crataegus* Sect. *Crataegus* and Nothosect. *Crataeguineae* (Rosaceae-Maloideae) in the old world. *Systematic Botany Monographs*, 35, 1-199.
- Connor, D., & Centeno, A. (2009). Yield determination in olive hedgerow orchards. II. Analysis of radiation and fruiting profiles. *Crop & Pasture Science*, 60, 443-452.
- Fineschi, S., Salvini, D., Turchini, D., Pastorelli, R., & Vendramin, G. (2005). *Crataegus monogyna* Jacq. and *C. laevigata* (Poir.) DC. (Rosaceae, Maloideae) display low level of genetic diversity assessed by chloroplast markers. *Plant Systematics and Evolution*, 250, 187-196.
- Greipsson, S., & Davy, A. (1995). Seed mass and germination behaviour in populations of the dune-building grass *Leymus arenarius*. *Annals of Botany*, 76, 493.

Gutián, J., Gutián, P., Munilla, I., Gutián, J., Bermejo, T., Larrinaga, A.R., Navarro, L. & López, B. (2000). *Zorzales, espinos y serbales: Un estudio sobre el consumo de frutos silvestres de las aves migratorias en la costa occidental europea*. Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela.

Herrera, C. M. (2009). *Multiplicity in unity: Plant subindividual variation and interactions with animals*. University of Chicago Press. Chicago, Illinois, USA.

Herrera, C. M., Jordano, P., Lopez-Soria, L., & Amat, J. A. (1994). Recruitment of a mast-fruited, bird-dispersed tree: Bridging frugivore activity and seedling establishment. *Ecological Monographs*, 64, 315-344.

Lande, R., & Arnold, S. J. (1983). The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, 37, 1210-1226.

Lang, D. (1987). *The Complete Book of British Berries*. Threshold Books, Ltd, London.

Lázaro, A., & Traveset, A. (2007). Does the spatial variation in selective pressures explain among-site differences in seed mass? A test with *Buxus balearica*. *Evolutionary Ecology*, 23, 1-19.

Lenormand, T. (2002). Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology & Evolution*, 17, 183-189.

Manzaneda, A. J., Rey, P. J., & Boulay, R. E. L. (2007). Geographic and temporal variation in the ant-seed dispersal assemblage of the perennial herb *Helleborus foetidus* L. (Ranunculaceae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 92, 135-150.

Martínez, I., García, D., & Obeso, J. R. (2007). Allometric allocation in fruit and seed packaging conditions the conflict among selective pressures on seed size. *Evolutionary Ecology*, 21, 517-533.

Mazer, S. J. (1987). The quantitative genetics of life history and fitness components in *Raphanus raphanistrum* L. (Brassicaceae): Ecological and evolutionary consequences of seed-weight variation. *The American Naturalist*, 130, 891-914.

McWilliams, E., Landers, R., & Mahlstede, J. (1968). Variation in seed weight and germination in populations of *Amaranthus retroflexus* L. *Ecology*, 49, 290-296.

Mock, D., & Parker, G. (1998). *The evolution of sibling rivalry*. Oxford University Press. Oxford.

Moegenburg, S. M. (1996). *Sabal palmetto* seed size: Causes of variation, choices of predators, and consequences for seedlings. *Oecologia*, 106, 539-543.

Murray, B. R., Brown, A., Dickman, C., & Crowther, M. (2004). Geographical gradients in seed mass in relation to climate. *Journal of Biogeography*, 31, 379-388.

National Oceanic and Atmospheric Administration EEUU. Documento electrónico. URL. <http://www.cdc.noaa.gov:80/USclimate/>. Consultado 1/04/2009.

Pearson, K. (1901). Mathematical contributions to the theory of evolution. IX. On the principle of homotyposis and its relation to heredity, to the variability of the individual, and to that of the race. Part I. Homotyposis in the Vegetable Kingdom. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 197, 285-379.

Pigliucci, M., & Preston, K. A. (2004). *Phenotypic integration: Studying the ecology and evolution of complex phenotypes*. Oxford University Press, Oxford.

Schupp, E., & Fuentes, M. (1995). Spatial patterns of seed dispersal and the unification of plant population ecology. *Ecoscience*, 2, 267-275.

Susko, D. J., & Lovett-Doust, L. (2000). Patterns of seed mass variation and their effects on seedling traits in *Alliaria petiolata* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 87, 56-66.

Thompson, J. N. (1994). *The coevolutionary process*. University of Chicago Press, Chicago.

Tripathi, R., & Khan, M. (1990). Effects of seed weight and microsite characteristics on germination and seedling fitness in two species of *Quercus* in a subtropical wet hill forest. *Oikos*, 57, 289-296.

Verhoeven, K. J. F., Vanhala, T. K., Biere, A., Nevo, E., & Van Damme, J. M. M. (2004). The genetic basis of adaptive population differentiation: A quantitative trait locus analysis of fitness traits in two wild barley populations from contrasting habitats. *Evolution*, 58, 270-283.

Wheelwright, N. T. (1993). Fruit size in a tropical tree species: Variation, preference by birds, and heritability. *Plant Ecology*, 107, 163-174.

Winn, A. A. (1988). Ecological and evolutionary consequences of seed size in *Prunella vulgaris*. *Ecology*, 69, 1537-1544.

Winn, A. A., & Gross, K. L. (1993). Latitudinal variation in seed weight and flower number in *Prunella vulgaris*. *Oecologia*, 93, 55-62.

Wood, D. M., & Morris, W. F. (1990). Ecological constraints to seedling establishment on the Pumice Plains, mount St. Helens, Washington. *American Journal of Botany*, 77, 1411-1418.

Zar, J. H. (1999). *Biostatistical analysis*. Fourth edition. Prentice-Hall, London.

Zhang, J., & Maun, M. (1991). Establishment and growth of *Panicum virgatum* L. seedlings on a Lake Erie sand dune. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 118, 141-153.

Anexo I. Número de árboles estudiados y características de las 13 poblaciones de *Crataegus monogyna*. La precipitación indica la cantidad acumulada entre abril y septiembre de 2007.

	Latitud	Número de árboles	Precipitación (mm)
Salamanca	41°00'	21	2.640
Mostad	42°36'	27	2.040
Salies	43°28'	23	4.071
Yves	46°05'	25	5.070
Nesle	48°34'	11	6.460
Vengeons	49°,55'	23	3.840
Hay on Wye	51°57'	18	3.924
Bronaber	52°50'	24	4.930
Eastriggs	54°59'	23	7.260
Eyemouth	55°53'	16	4.161
Barcaldine	56°25'	19	4.130
Stonehaven	56°57'	17	5.210
Aberscross	57°58'	24	5.600

Anexo II. Coeficientes de selección total (S) sobre los rasgos fenotípicos de interés para las 13 poblaciones estudiadas. Los coeficientes marcados en negrita resultaron significativos ($p < 0,05$) y los coeficientes marcados con un asterisco resultaron marginalmente significativos ($p < 0,10$).

	Diámetro fruto	Longitud semilla	CV diámetro de fruto	CV longitud de semilla
Salamanca	0,057*	0,028	0,051	-0,018
Mostad	0,003*	0,002	0,004	-0,002
Salies	0,017	0,016	0,030	-0,028
Yves	0,073	0,046	0,086	0,062
Nesle	-0,058	-0,011	-0,020	-0,071
Vengeons	-0,068	-0,107*	-0,200	-0,030
Hay on Wye	-0,205	-0,039	-0,073	0,151*
Bronaber	0,017	-0,034	-0,064	-0,036
Eastriggs	-0,019	0,005	0,010	0,032
Eyemouth	0,003	0,003	0,006	-0,004
Barcaldine	0,019*	-0,010	-0,019	-0,010
Stonehaven	0,062	0,072*	0,135	-0,052
Aberscross	0,007	0,007	0,013	0,008



CAPÍTULO 5. PRESIONES DE SELECCIÓN POST-DISPERSIVAS: DEPREDACIÓN Y GERMINACIÓN DE SEMILLAS

Resumen

Los dispersantes de semillas sólo juegan un papel en la evolución de las plantas si su actividad influye sobre los estadios posteriores del ciclo de vida de éstas. Una vez que las semillas han sido dispersadas, deben superar el riesgo de depredación, los ataques de parásitos y varias fuentes de estrés ambiental. Las semillas de *Crataegus monogyna* son depredadas por ratones, casi exclusivamente por *Apodemus sylvaticus*. En este capítulo abordo la relación entre el tamaño de semilla y la supervivencia a la depredación, la probabilidad de germinación y el crecimiento temprano de las plántulas. La selección fenotípica causada por estos procesos la analizo a dos niveles diferentes: sobre las semillas individuales y sobre los árboles madre. En este segundo caso analizo tanto el tamaño medio de fruto y semilla por árbol como su variabilidad intra-individual. Para una semilla dispersada, la probabilidad de sobrevivir a la depredación es mayor cuanto mayor es su diámetro y además está afectada por el lugar en donde ha sido depositada. La probabilidad de germinación de una semilla estuvo relacionada con el tamaño, de modo que las semillas con menores diámetros y mayores longitudes, es decir, con formas más alargadas, germinaron mejor. La depredación de las semillas causa presiones de selección sobre los fenotipos de las plantas madre, mientras que la germinación no tuvo efecto a ese nivel. Los árboles con mayor diámetro medio de fruto y de semilla y con menor variabilidad intra-individual del tamaño de semilla presentaron mayor supervivencia a la depredación.

1. Introducción

Los dispersantes de semillas sólo juegan un papel en la evolución de las plantas si su actividad, selección de los frutos y diseminación de las semillas, influye sobre los estadios posteriores de su ciclo vital (Schupp 1995, Jordano 2000, Willson y Traveset 2000). Una vez que las semillas han sido dispersadas, deben superar el riesgo de depredación, los ataques de parásitos y otras fuentes de estrés ambiental como sequías, enterramiento o poca disponibilidad de luz. Todos estos factores hacen que la fase post-dispersiva del desarrollo sea una de las etapas más críticas durante la ontogenia de la planta.

Los eventos que ocurren durante el episodio de remoción de frutos y de deposición y depredación de las semillas tienen influencia directa en procesos demográficos que ocurren más tarde, como el establecimiento de las plántulas y su supervivencia. Las plántulas se enfrentan a numerosas vicisitudes durante su establecimiento. Las tasas de mortalidad son a menudo muy altas (Harper 1977) y consecuentemente la selección natural podría operar fuertemente durante este estadio temprano del ciclo de vida de la planta. Es necesario considerar cómo los procesos demográficos, especialmente la germinación de las semillas y el establecimiento de las plántulas, están influidos por la variación en rasgos relevantes para la interacción planta-frugívoro (Jordano 2000). Uno de estos rasgos es el tamaño de la semilla, el cual ocupa una posición muy importante en la ecología de una especie ya que une la ecología de la reproducción y el establecimiento de las plántulas con la ecología del crecimiento (Leishman et al. 2000).

Por otro lado, el tamaño de la semilla se ha mostrado en muchos casos como un rasgo que explica diferencias en la supervivencia a la depredación de las semillas dispersadas. Algunos estudios han demostrado que la depredación post-dispersiva podría oponerse, o incluso cancelar, las ventajas usuales del reclutamiento de grandes semillas en etapas más tardías (Leishman et al. 2000), derivadas del beneficio que supone un contenido más elevado de nutrientes y energía a la hora de germinar, crecer y superar el estrés ambiental (Kerley y Erasmus 1991). Incluso existen evidencias de una disyuntiva entre dispersión y establecimiento (Ganeshiah y Uma Shaanker 1991, Hedge et al. 1991, Parciak 2002, Debain et al. 2003). De hecho, los estudios realizados hasta la fecha sugieren que los roedores que depredan las semillas prefieren las semillas de mayor tamaño, tanto entre especies como dentro de especies (Van der Wall 1994, Hulme 1998, Kollmann et al. 1998), aunque otros estudios han encontrado preferencia por semillas de tamaños menores (Alcántara y Rey 2003). Para las semillas de *Crataegus monogyna*, la ventaja que supone el tamaño en la etapa dispersiva parece verse después anulada por el efecto de la depredación de semillas, estableciéndose de este modo presiones selectivas conflictivas (Martínez et al. 2007). Por otra parte, muchos estudios han demostrado que el tamaño inicial de la semilla a nivel intra-específico está positivamente

relacionado con el tamaño de la plántula (Dolan 1984, Wulff 1986, Zhang and Maun 1991, Moegenburg 1996) y que las semillas de mayor tamaño presentan una mayor supervivencia de plántulas (Stanton 1984, Morse and Schmitt 1985, Winn 1988, Tripathi and Khan 1990, Wood and Morris 1990). Además, existen factores extrínsecos a las semillas que pueden afectar a la depredación, la germinación, la supervivencia y el crecimiento de las plántulas. Por ejemplo, el contexto espacial de las semillas juega un papel importante con respecto a la probabilidad de depredación (Rey y Alcántara 2000, García et al. 2005, Martínez et al. 2007). De hecho, existe una pronunciada variación espacial en las tasas de consumo de semillas (por ejemplo Crawley 1990), la cual no se explica únicamente por el efecto de la densidad de semillas o por la distancia a la planta madre (Janzen 1970).

La depredación de las semillas por parte de los roedores puede seguir diferentes patrones de selección dependiendo de si estas semillas se encuentran agregadas o dispersas. Las semillas producidas por los árboles pueden tener diferentes destinos. En primer lugar, algunas caen debajo de la planta madre, protegidas aún por el fruto, bien tiradas por las aves (debido al rechazo o a problemas de manipulación) o bien desprendidas finalmente de los árboles durante el invierno. Otras son consumidas por las aves y defecadas o regurgitadas bajo las copas de los árboles, apareciendo por tanto sin la protección del fruto. Todas estas semillas no dispersadas se encuentran en ambientes de alta densidad de semillas y competencia por los recursos con otras semillas y con la planta adulta. Por el contrario, las semillas consumidas que finalmente son dispersadas con éxito, son defecadas en espacios abiertos en condiciones potenciales de poca competencia. Aunque la probabilidad de llegar a ser una planta adulta es mayor para una semilla dispersada (Howe y Smalwood 1982), algunas semillas no dispersadas podrán sobrevivir a la depredación y llegar a germinar. Es probable que las presiones de selección sobre las semillas no dispersadas difieran de las sufridas por las semillas dispersadas. Por ejemplo, la abundancia de semillas podría variar las preferencias de los roedores por los tamaños de éstas, ya que una mayor

agregación podría reducir la influencia de las preferencias, al reducir drásticamente los costes de búsqueda.

Estos procesos podrían traducirse en presiones de selección sobre los fenotipos de las semillas individuales y sobre los fenotipos de los árboles madre, debido a la relación entre la supervivencia a la depredación y la probabilidad de germinación con el éxito reproductivo total de los individuos. Además, es posible que la variabilidad intra-individual de los tamaños de frutos y semillas constituya un rasgo bajo selección (Herrera 2009). En conjunto, estos patrones de selección podrían reforzar o revertir los patrones ejercidos durante la dispersión de semillas que he descrito en los capítulos anteriores.

Durante este estudio no he observado depredación pre-dispersiva en esta especie, ni de pulpa ni de semillas. La depredación por roedores en ramas ha sido documentada en pocas ocasiones (p.e. Obeso 1998) y tampoco he observado aves granívoras ni mamíferos, como *Sciurus vulgaris* (ver Guitián et al. 2000), consumiendo semillas de espinos en los árboles. Por otra parte, no he observado dispersión secundaria de las semillas por parte de hormigas. De hecho Hulme (1997), encontró que la dispersión secundaria por hormigas en esta especie es muy poco significativa. Las semillas de *Crataegus monogyna* son depredadas en el suelo por ratones, casi exclusivamente por *Apodemus sylvaticus* (García et al. 2005). Estos roedores consumen tanto las semillas que están en el interior de los frutos caídos al suelo, como aquellas procedentes de regurgitaciones, deyecciones o que ya han perdido la cobertura de la pulpa. En general, muerden la semilla por un extremo, practicando un orificio por el que extraen el endospermo, o bien la parten longitudinalmente en dos mitades. Los restos son acumulados habitualmente a la entrada de las madrigueras (Martínez et al. 2007) o aparecen agrupados bajo los árboles (observación personal).

En este capítulo analicé la relación entre el tamaño de la semilla del espinos blanco y su supervivencia a la depredación, la probabilidad de germinación y el crecimiento de las plántulas. Analicé la supervivencia a la depredación tanto de las semillas bajo las copas como de las semillas dispersadas lejos de las plantas. Por último, estudié cómo se traducen estos

procesos en presiones de selección sobre los fenotipos de las semillas individuales y sobre los fenotipos maternos de los árboles.

En concreto, examiné las siguientes hipótesis: (1) Existen presiones de selección ejercidas sobre el fenotipo de las semillas durante la etapa en la que pueden sufrir depredación, durante la germinación y durante el crecimiento. (2) Estas presiones se ejercen sobre el fenotipo materno y sobre el fenotipo de las semillas individuales.

2. Métodos

Para los experimentos de este capítulo utilicé frutos y semillas procedentes de los mismos árboles de las poblaciones de Mostad (Lugo 42°37'N 7°09'O; 859 m s.n.m.) y Carucedo (León, 42° 30' N, 6° 49' O; 550 m s.n.m) con los que se realizaron los estudios mostrados en capítulos anteriores (véase Fig. 1, Capítulo 3).

2.1. Experimento de depredación de las semillas contenidas en los frutos caídos bajo los árboles

El experimento trato de estimar la depredación sobre las semillas en el interior de los frutos tirados por las aves o caídos del árbol. El 1 de Noviembre de 2007 recogí 50 frutos por cada uno de los 20 árboles marcados en la población de Mostad y medí su longitud y diámetro con un calibre de precisión 0,01 mm. Posteriormente (14 noviembre de 2007), pegué con pegamento instantáneo los 50 frutos pertenecientes a cada árbol, sobre una tira de plástico de 15 x 4 cm en dos hileras de 25 frutos. Los frutos se colocaron aleatoriamente y se numeraron en el soporte para permitir la identificación posterior de las pérdidas por depredación. Situé, bajo el árbol correspondiente, un control de 50 semillas, en igual disposición pero protegidas por una malla metálica de 1 cm de luz. En los dos casos, los soportes se fijaron al suelo con clavos.

Posteriormente visité los árboles los días 22/11/07, 6/12/07 y 9/12/07, anotando en cada visita los frutos que habían desaparecido. Dado que no se

despegó ni perdió ninguno de los frutos de los controles a lo largo del periodo de seguimiento, no fue necesario realizar ninguna corrección en el análisis.

2.2. Experimento de depredación de semillas bajo los árboles

El experimento trató de estimar la depredación sobre las semillas regurgitadas o defecadas bajo los árboles. El 9 de Enero de 2007 coloqué, bajo la copa de 21 árboles de la población de Mostad, una bandeja de malla metálica de 8 x 8 cm con 25 semillas pertenecientes al árbol en cuestión. Previamente, había medido la longitud y diámetro de cada semilla con un calibre digital de precisión 0,01 mm. En cada árbol incorporé también un control, consistente en 10 semillas colocadas en el mismo tipo de bandeja, cubiertas con malla metálica, para asegurar que la desaparición de las semillas se produce exclusivamente por depredación. La única visita se realizó el 21 de Enero de 2007, ya que en esta fecha el 80% de las semillas habían sido depredadas (véase la sección de resultados). En esta ocasión tampoco desapareció ninguna de las semillas pertenecientes al control, por lo que no realicé ninguna corrección posterior.

2.3. Experimento de depredación de semillas dispersadas

El día 26 de Noviembre de 2008 recogí 25 frutos de 24 árboles de la población de Carucedo. Tras extraer las semillas, medí su longitud y diámetro con un calibre digital de precisión 0,01 mm. El día 27 de noviembre establecí, en la parte este de la población de espinos bajo estudio, dos mallas espaciales de 10 filas por 30 columnas, con una separación entre puntos de 2 m. En cada uno de los 600 puntos seleccionados coloqué una bandeja de malla metálica de 5 x 5 cm sujeta al suelo con un clavo. A continuación distribuí aleatoriamente en los 600 soportes las 600 semillas medidas, identificándolas mediante un número escrito en una pequeña arandela plástica que rodeaba la cabeza del clavo de sujeción al suelo. Finalmente anoté individualmente la posición espacial de cada semilla en la malla, llamándole y a las filas y x a las columnas. Visité la zona a lo largo de 7 meses, en las siguientes fechas; 27/11/08, 12/12/08, 28/1/09, 12/2/09, 12/3/09, 18/5/09 y 23/06/09, anotando las semillas desaparecidas. Dispuse en los extremos de las columnas ocho controles protegidos del ataque de los ratones, con una semilla en cada caso y cubierta por una malla metálica para asegurar que la remoción que observamos se debió exclusivamente a la depredación de semillas y no al arrastre por agua, viento, etc. No desapareció

ninguna de las semillas pertenecientes a los controles por lo que no realicé ninguna corrección en los análisis.

2.4. Experimento de germinación y crecimiento

El 24 de Octubre de 2005 recolecté 100 frutos de cada uno de los 30 árboles estudiados en la población de Carucedo (véase Capítulo 2) y medí la longitud y el diámetro de todos los frutos y semillas con un calibre digital de precisión 0,01 mm. Algunos árboles presentaron tamaños de cosechas menores de 100, por lo que el número final de frutos y semillas medidos fue de 2273. El 1 de Noviembre de 2005 planté todas las semillas en semilleros individuales al aire libre en la localidad de Vedra (A Coruña, 200 m de altitud, 1600 mm de precipitación anual, 13,3 °C de temperatura media anual). Utilicé semilleros con cubetas de 5 x 5 x 20 cm y sustrato comercial libre de semillas. Los semilleros se colocaron en un suelo sin sombra durante todo el año y la parcela se rodeó y cubrió con una malla protectora para impedir la acción de depredadores de semillas. Una vez que las plantas alcanzaron la altura de la malla de protección (40 cm) ésta fue retirada. Además, durante todo el periodo la parcela se limpió periódicamente de otras plantas, tanto dentro de los semilleros individuales (plantas nacidas de semillas trasladadas accidentalmente al interior de los tiestos), como entre los mismos (plantas trasladadas o procedentes del banco de semillas de la parcela), de modo que el experimento debe de considerarse en condiciones libres de competencia o con competencia muy atenuada. He utilizado este criterio, ante la imposibilidad de detectar la emergencia de las plántulas de espino si no se limpian los tiestos de las plántulas de otras especies de crecimiento mucho más rápido. Las fechas de observación fueron las siguientes; 25/04/06, 8/05/06, 23/05/06, 6/06/06, 6/07/06, 18/09/06, 26/01/07, 11/04/07 y 25/07/07. En cada observación anoté las semillas que habían germinado y los tamaños de las plántulas.

2.5. Análisis estadísticos

2.5.1. Aspectos comunes al análisis de todos los experimentos

Realicé el análisis de todos los experimentos mediante Modelos Lineales Generalizados (GLM) en los que incluí el *árbol* como factor aleatorio. Estos modelos fueron estimados por medio de Ecuaciones Estimadas Generalizadas (GEE). Este método asume que no hay interacción entre el factor aleatorio y las covariables y tiene en cuenta la correlación entre los datos de un mismo sujeto. El método no estima un parámetro de varianza para el factor sujeto (factor aleatorio, en este caso *árbol*). Elegí la distribución del error y la función de enlace de cada modelo utilizando el método del menor AICc (Burnham and Anderson 2002). Los análisis fueron realizados con el programa estadístico SPSS 17.

2.5.2. Análisis de la depredación de los frutos y de las semillas bajo los árboles

El análisis de ambos experimentos fue análogo, aunque las covariables en el primero fueron la *longitud* y el *diámetro* del fruto y en el segundo la *longitud* y el *diámetro* de la semilla.

En el análisis de la probabilidad de depredación, consideré el evento de depredación como variable respuesta dicotómica (*depredada*= 1, *no depredada* = 0) y la modelé por medio de una distribución binomial y una función de enlace logit. Incluí el *árbol* como factor aleatorio y la *longitud* y el *diámetro*, de fruto o de semilla respectivamente, como covariables.

Para la tasa temporal de depredación de los frutos recurrí a un análisis similar al anterior, en que la variable respuesta fue el *número de días* transcurridos desde el inicio del experimento hasta la depredación de cada semilla. En este caso, sólo incluí en el análisis los frutos o las semillas que habían sido depredados. El modelo utilizó una distribución gamma y una función de enlace logarítmica.

2.5.3. Análisis de la depredación de las semillas dispersadas

En el análisis de la probabilidad de depredación, consideré el evento de depredación como variable respuesta dicotómica (*depredada* = 1, *no depredada* = 0). Ajusté un modelo con distribución binomial y función de enlace logit. Incluí el *árbol* como factor aleatorio y la *longitud* y *diámetro*, del fruto o de la semilla respectivamente, como covariables. Para tener en cuenta la posible

heterogeneidad espacial de la depredación, incluí las variables de posición espacial x e y así como sus cuadrados.

Analicé la tasa temporal de depredación de las semillas dispersadas, mediante un análisis similar, en el que la variable respuesta fue el *número de días* transcurridos desde el inicio del experimento hasta la depredación de cada semilla. En este caso, sólo incluí en el análisis las semillas que habían sido depredadas. El modelo se construyó con una distribución gamma y una función de enlace logarítmica. Las covariables fueron la *longitud* y el *diámetro* de la semilla e incluí las variables de posición espacial x e y así como sus cuadrados.

2.5.4. Análisis de la germinación y crecimiento

En el análisis de la probabilidad de germinación, la variable respuesta tomó el valor 1 para las semillas germinadas y el 0 para las no germinadas, con una distribución *binomial* y una función de enlace *logit*. Incluí la *longitud* y el *diámetro* de la semilla como covariables.

Analicé la tasa temporal de germinación de las semillas de manera análoga, con el *número de días transcurridos hasta la germinación* como variable respuesta, con una distribución gamma y una función de enlace logarítmica. En este caso, sólo incluí en el análisis las semillas que habían germinado.

Analice el crecimiento empleando la *tasa de crecimiento* como variable respuesta, con una distribución gamma y una función de enlace logarítmica. Calculé la variable *tasa de crecimiento* de la plántula p como la media de las tasas de crecimiento diario estimadas en cada periodo para la plántula p . Cada tasa de crecimiento individual fue calculada como el número de centímetros ganados desde la medida anterior divididos por el número de días transcurridos:

$$Tasa_{de\,crecimiento}_p = \left[\frac{\sum (tamaño_{pt} - tamaño_{pt-1})}{t - t_{-1}} \right] * n^{-1},$$

siendo n el número de medidas realizadas por planta, p la plántula focal, t el periodo de revisión considerado y $t-1$ el periodo anterior.

Para el análisis del crecimiento, sólo utilicé los datos de las medidas desde el 25/04/06 hasta el 26/01/07 para excluir el efecto de la competencia

entre las propias plantas de espino. Por tanto, realicé este análisis exclusivamente para las 84 semillas que germinaron durante el primer año.

2.5.5. Cálculo de los coeficientes de selección total (S) sobre los fenotipos individuales y sobre los fenotipos maternos

En este capítulo me interesa comprobar si el efecto de los dispersantes sobre la evolución del tamaño del fruto es o no revertido en etapas post-dispersivas del ciclo vital, por lo cual calculé únicamente los coeficientes de selección total (S).

Analicé la selección fenotípica ejercida sobre los fenotipos de las semillas como individuos y sobre los fenotipos maternos como productores de frutos y semillas. Los caracteres estudiados al nivel de los fenotipos individuales, fueron la longitud y el diámetro de las semillas, mientras que al nivel de los fenotipos maternos incluí la longitud y el diámetro medio de los frutos y semillas, así como su variabilidad intra-individual. Cuantifiqué la variabilidad intra-individual del tamaño de los frutos y de las semillas mediante el Coeficiente de Variación (CV) de estos caracteres, ya que la varianza y la desviación estándar son dependiente de la escala y, por tanto, no pueden ser usadas apropiadamente para comparar niveles de variabilidad (Pearson 1901, Zar 1999).

En el caso de la depredación sobre los frutos y las semillas bajo los árboles, estimé únicamente los coeficientes de selección sobre fenotipos maternos y no sobre fenotipos individuales, puesto que el análisis probó que la depredación en este caso no está relacionada con el tamaño del fruto o de la semilla (véase sección de resultados, Tabla 1).

Estimé los coeficientes de selección totales (S), mediante una regresión simple de la eficacia reproductiva relativa en función de los rasgos estudiados (Lande y Arnold 1983). Estos coeficientes de selección fueron posteriormente estandarizados. Desgraciadamente, debido a problemas logísticos, no me fue posible estimar en las mismas poblaciones y años los coeficientes de selección para los diferentes componentes del éxito reproductivo.

Hay que tener en cuenta que estas medidas de la eficacia son únicamente componentes del éxito reproductivo total del individuo. Definí, en

cada caso, la eficacia relativa de la semilla o del árbol como la razón entre la eficacia absoluta de cada individuo y la eficacia media de todos los individuos:

$$w = n * E_a / \sum_a E_a ,$$

donde E_a es la eficacia absoluta de un individuo y n es el número total de individuos estudiados.

Estime cuatro componentes parciales de la eficacia frente a la depredación. En primer lugar, calculé la eficacia relativa en función de la supervivencia a la depredación de los frutos (y sus semillas) bajo los árboles, En segundo lugar, estimé, de igual manera, la eficacia relativa en función de la supervivencia, pero relativa a las semillas defecadas o regurgitadas bajo los árboles. En tercer lugar, calculé la eficacia para las semillas dispersadas. En los tres casos, definí la eficacia absoluta de cada árbol como el porcentaje de semillas que sobrevivieron a la depredación, y la eficacia absoluta de cada semilla como 1, si sobrevivió a la depredación, y como 0, si fue depredada.

Finalmente, estimé la eficacia relativa en función del éxito de germinación. Una vez más, definí la eficacia relativa de cada árbol como el porcentaje de semillas germinadas y la eficacia absoluta de cada semilla como 1 si germinó y 0 si no germinó.

3. Resultados

3.1. Depredación de los frutos bajo los árboles

De los 21 árboles utilizados en este experimento, 3 sufrieron una depredación del 100 % de los frutos ofrecidos bajo las copas, 4 árboles presentaron depredación de entre el 65 y el 84 % y 13 no presentaron depredación. La depredación media total fue del 33%, esto es, 316 frutos de los 1.005 frutos medidos. El 17,1% de estos frutos fueron depredados durante la primera semana tras su colocación. El 18,9% fueron depredados entre 8 y 22 días tras la instalación y el resto, 63,6% entre 22 y 53 días desde su colocación. Tanto la probabilidad como la tasa temporal de depredación fueron independientes del tamaño del fruto (Tabla 1).

3.2. Depredación de las semillas bajo los árboles

La probabilidad de supervivencia a la depredación de las semillas no dependió de sus características individuales (Tabla 1). De las bandejas colocadas bajo los 21 árboles utilizados en este experimento, 17 sufrieron una depredación del 100% de las semillas y en otras 4 no hubo ninguna pérdida durante todo el periodo del seguimiento. Esto significa que sólo 100 de las 526 semillas expuestas sobrevivieron a la depredación durante al menos 12 días.

3.3. Depredación de las semillas dispersadas

La probabilidad de que una semilla dispersada fuese depredada dependió de su diámetro, de tal manera que las semillas de mayor diámetro presentaron una probabilidad menor de ser depredadas (Tabla 2). Por otra parte, la probabilidad de que una semilla fuese depredada tuvo relación con la distribución espacial de las semillas, es decir, hubo heterogeneidad espacial en la depredación como indican los efectos significativos de los ejes espaciales (efectos y e y^2). Por el contrario la tasa temporal de depredación no estuvo afectada por la distribución espacial de las semillas ni por el tamaño de éstas (Tabla 2).

Del total de las 600 semillas seguidas durante este experimento, 360 semillas fueron depredadas y 240 (41%) sobrevivieron a la depredación durante el periodo estudiado (211 días). Todos los árboles sufrieron depredación (entre el 16% y el 60% de las semillas expuestas de cada árbol) y la tasa de desaparición de semillas fue relativamente constante durante todo el periodo.

Tabla 1. Resultados de las GEE realizadas para analizar la depredación de los frutos y semillas bajo los árboles. Nótese que las 4 primeras filas son el resultado para el experimento de supervivencia de frutos bajo los árboles y, las 2 restantes, el resultado del experimento de supervivencia de semillas bajo los árboles.

		Chi-cuadrado			
	Variable	Estima	de Wald	gl	p
Supervivencia de los frutos	Longitud de fruto	-0,12	0,12	1	0,73
	Diámetro de fruto	0,42	3,06	1	0,08
Tasa temporal de depredación de los frutos	Longitud de fruto	-0,05	0,54	1	0,46
	Diámetro de fruto	0,05	0,30	1	0,59
Supervivencia de las semillas	Longitud de semilla	-0,01	0,00	1	0,98
	Diámetro de semilla	-0,63	1,49	1	0,22

Tabla 2. Resultados de las GEE realizadas para analizar la depredación de las semillas dispersadas, en función de su tamaño y de su localización espacial. Se muestran, en negrita, los efectos significativos.

		Estima	Chi-cuadrado de Wald	gl	p
Probabilidad de supervivencia	Longitud de semilla	-0,07	0,14	1	0,71
	Diámetro de semilla	0,66	6,61	1	0,01
	x	-0,03	1,26	1	0,26
	y	-0,23	6,61	1	0,01
	x ²	-0,00	2,61	1	0,11
	y ²	0,02	7,17	1	0,01
Tasa temporal de depredación	Longitud de semilla	-0,05	0,66	1	0,42
	Diámetro de semilla	-0,09	1,19	1	0,28
	x	0,01	0,34	1	0,56
	y	-0,02	0,24	1	0,62
	x ²	0,00	0,85	1	0,36
	y ²	0,00	0,36	1	0,55

3.4. Germinación y crecimiento

La longitud de las semillas tuvo un efecto positivo y significativo sobre la probabilidad de germinación, mientras que su diámetro tuvo el efecto opuesto. No encontré ningún efecto de los rasgos de la semilla, ni en la tasa temporal de germinación ni en el crecimiento de las plántulas (Tabla 3).

Después de un periodo de dos años, germinaron 507 (22,2 %) de las 2.280 semillas sembradas. Únicamente 24 de los 30 árboles presentaron germinación, la cual varió, dependiendo del árbol, entre el 1% y el 49 % de las semillas plantadas. Se observaron germinaciones durante el periodo comprendido entre los 174 y los 629 días tras la siembra. El 17,7% de las semillas germinaron durante el primer año, y el 82,3 % restante durante el segundo año. El número medio de días que tardaron las semillas en germinar varió entre árboles de 374 a 573 días.

La tasa de crecimiento media fue de 0,08 cm por día en las 84 plantas nacidas el primer año, variando entre 0,01 y 0,18 cm. Los 16 árboles, cuyas semillas germinaron el primer año, presentaron tasas de crecimiento medio de 0,041 a 0,129 cm por día. Después de los dos años de seguimiento, el tamaño máximo alcanzado por plantas nacidas en la primera primavera fue extraordinariamente variable (entre 13 y 117 cm).

Tabla 3. Resultados de las GEE realizadas para analizar la germinación y el crecimiento de las semillas en función de su tamaño.

		Estima	gl	p
Probabilidad de germinación	Longitud de semilla	0,407	1	0,001
	Diámetro de semilla	-0,487	1	0,001
Tasa de germinación	Longitud de semilla	0,024	1	0,223
	Diámetro de semilla	0,009	1	0,851
Tasa de crecimiento	Longitud de semilla	0,005	1	0,963
	Diámetro de semilla	0,07	1	0,476

3.5. Selección fenotípica. Coeficientes de selección total

3.5.1. Fenotipos individuales (nivel de semilla)

Los resultados muestran que la supervivencia de las semillas dispersadas estuvo relacionada con el tamaño de manera significativa, de tal forma que la probabilidad de supervivencia fue mayor para valores mayores de diámetro ($S = 0,22$, $p < 0,001$) y longitud de las semillas ($S = 0,14$, $p < 0,001$). Por el contrario, en la fase de germinación la selección sobre el diámetro de semilla fue negativa ($S = -0,08$, $p < 0,001$), de modo que las semillas con mayores diámetros tuvieron una menor probabilidad de germinación. Es importante señalar que, sin embargo, esta relación resultó opuesta cuando se tiene en cuenta la longitud ($S = 0,18$, $p < 0,001$), ya que germinaron mejor las semillas de mayor longitud (Fig. 1). Los resultados sugieren, por lo tanto, que las semillas de formas más alargadas tuvieron un éxito mayor.

3.5.2. Fenotipos maternos

En cuanto a las plantas madre, los árboles con frutos y semillas de mayor diámetro y menor variabilidad intra-individual presentaron una mayor supervivencia a la depredación. Los resultados muestran también que ni la probabilidad de germinación de las semillas ni el crecimiento de las plántulas dependieron de los rasgos medidos (Tabla 4 y Fig. 2).

Tabla 4. Coeficientes de selección total estandarizados (S) calculados para los diferentes componentes de la eficacia reproductiva de las plantas madre: (1) Supervivencia a la depredación, (2) Probabilidad de germinación y (3) Tasa de crecimiento de las plántulas. En negrita, se muestran los coeficientes de selección significativos ($p < 0,05$).

S	Supervivencia a la depredación		Germinación	Crecimiento
	(no dispersadas)	(dispersadas)		
Diámetro del fruto	0,279		-0,041	-0,050
Longitud de fruto	0,114		0,111	-0,090
CV diámetro de fruto	0,022		0,081	0,000
CV longitud de fruto	-0,118		-0,131	0,110
Diámetro de la semilla	-0,419	0,187	-0,078	-0,010
Longitud de la semilla	-0,226	0,129	0,153	-0,075
CV diámetro de semilla	-0,958	0,017	0,068	0,040
CV longitud de semilla	-0,601	-0,202	0,003	0,082

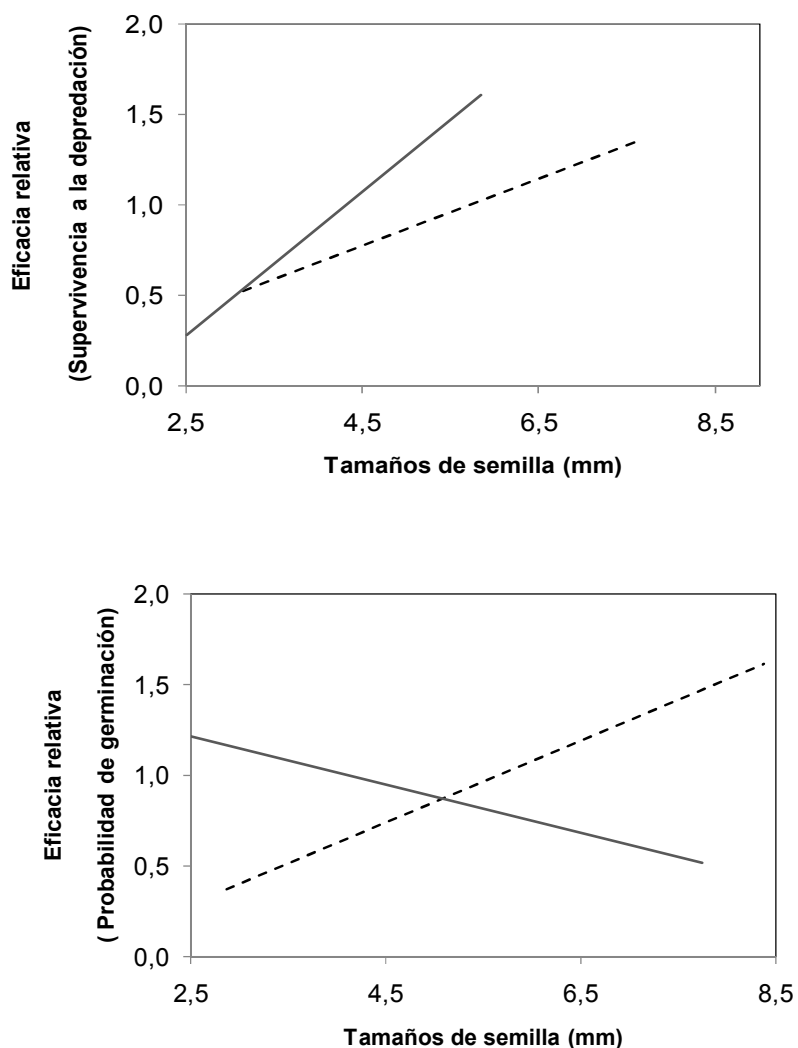


Figura 1. Eficacias relativas estimadas para las semillas, según su longitud y su diámetro. Arriba: supervivencia a la depredación; Abajo: probabilidad de germinación. Líneas de trazos: longitud de las semillas; Líneas continuas: diámetro de las semillas. Las pendientes se corresponden con los coeficientes de selección fenotípica (S).

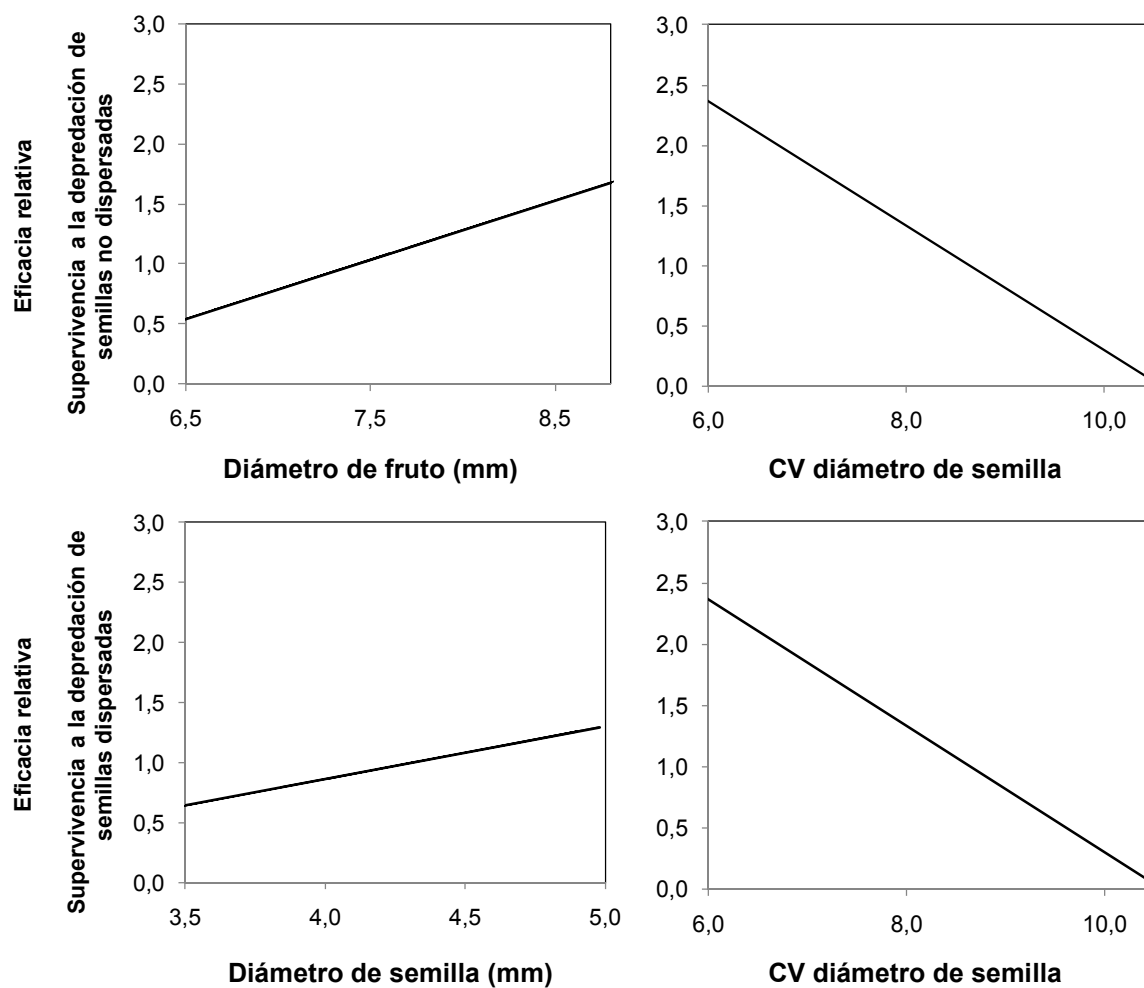


Figura 2. Efecto del tamaño y de la variabilidad sobre la eficacia relativa de supervivencia a la depredación de las semillas de los árboles estudiados. Las pendientes corresponden a los coeficientes de selección fenotípica calculados (S). Sólo se muestran los efectos significativos ($p < 0,05$).

4. Discusión

Los resultados sugieren que la probabilidad de que una semilla dispersada sea consumida por los ratones estuvo relacionada con su tamaño, mientras que éste no mostró ninguna relación con la supervivencia de las semillas que caen bajo los árboles. En concreto, el diámetro de las semillas dispersadas afectó negativamente a la selección por los depredadores. El tamaño también afectó significativamente a la probabilidad de germinación de cada semilla, de modo que las semillas que germinaron mejor fueron las más largas y estrechas. El éxito diferencial de las semillas, en función de algunos rasgos de tamaño, se traduce en presiones de selección sobre el fenotipo de las semillas individuales y sobre el fenotipo de las planta madre de *Crataegus monogyna*.

4.1. Depredación

Los resultados de este estudio son opuestos a otros estudios previos, realizados con la misma especie, sobre selección de tamaños de semilla por los depredadores (Martínez et al. 2007). Estos autores encontraron que los roedores depredaron preferentemente sobre las semillas de mayor tamaño. Las diferencias entre ambos estudios podrían ser debidas a los distintos enfoques metodológicos. Por una parte, Martínez et al. (2007) consideraron el tamaño de semilla como una variable categórica utilizando sólo semillas de los dos cuartiles extremos de la distribución. Por otra parte, tuvieron en cuenta el peso de la semilla y no la longitud o el diámetro. El peso integra el resultado de las dos medidas lineales, pero no tiene en cuenta que longitud y diámetro pueden estar sujetas a distintas presiones selectivas por parte de los roedores y pueden presentar una correlación diferente con otras variables de interés, como el grosor del endocarpo. Por último, ofrecieron las semillas grandes y pequeñas a la vez, de modo que midieron preferencias, las cuales sólo son la base para una posible selección fenotípica en condiciones de campo, que a menudo resultan alteradas o neutralizadas por otros factores.

El efecto positivo del diámetro de la semilla en la supervivencia frente a la depredación por roedores, puede venir determinado por el grosor del

endocarpo. Aunque Martínez et al. (2007) no encontraron una relación entre el peso de las semillas de *Crataegus monogyna* y el grosor del endocarpo, esta relación podría emerger si analizamos el diámetro de semilla como variable respuesta. De hecho, ha sido propuesto en numerosas ocasiones que las semillas de mayor tamaño invierten proporcionalmente mayor cantidad de recursos en defensas físicas, como es el endocarpo, en respuesta a los elevados riesgos de depredación (Fenner 1983, Blate et al. 1998, Moles et al. 2003). Algunos estudios citan el grosor del endocarpo como el factor explicativo más importante de las diferencias de depredación entre unas semillas y otras (Zhang y Zhang 2008). En un análisis realizado con semillas de los mismos árboles utilizados en el experimento, encontré que el diámetro de la semilla estuvo positiva y significativamente relacionado con el grosor del endocarpo, tanto en la zona apical como en la zona central de la semilla (ANCOVA con *diámetro* y *longitud* como covariables y *árbol* como factor aleatorio, $p < 0,05$ en ambos casos; $n = 360$ semillas, 15 semillas de 24 árboles). Es relevante el hecho de que, sin embargo la relación entre el aumento del diámetro de la semilla y el aumento del grosor del endocarpo resultó isométrica, según los análisis realizados con la misma muestra (regresiones RMA del diámetro sobre el grosor del endocarpo en la parte central de la semilla y del volumen de la semilla sobre el volumen del endocarpo) dado que en ningún caso la pendiente fue diferente de 1. Este resultado coincide con el estudio de Martínez et al. (2007) para la misma especie, en el que se encontró isometría entre el grosor del endocarpo y el endosperma. A pesar de existir isometría, el mero aumento proporcional del grosor del endocarpo parece suficiente para provocar este comportamiento de los roedores cuando depredan las semillas.

La heterogeneidad espacial podría explicar parte de las diferencias entre árboles en las tasas de depredación de semillas no dispersadas, tanto en relación a los refugios de los ratones, como a la heterogeneidad de la densidad de semillas, probablemente relacionada con el tamaño de la cosechas de cada uno de los árboles bajo los cuales se ofrecieron las semillas. De cualquier manera, las posibles presiones de selección ejercidas sobre las semillas caídas bajo los árboles estarían anuladas por una probabilidad de supervivencia muy baja en la siguiente fase de desarrollo, en la que las plantas compiten con la

planta madre y con otras plántulas por los recursos (p.e. Howe y Smallwood 1982). Nuestro estudio no está diseñado para detectar supervivencias diferenciales cerca y lejos de las plantas madre, pero como indican los porcentajes de depredación total que encontré, la depredación sobre las semillas dispersadas es mucho menor que la depredación sobre las semillas no dispersadas y las presiones de selección sobre los diferentes grupos de semillas son diferentes.

4.2. Germinación y crecimiento

Mis resultados sugieren que un mayor diámetro podría ser una ventaja para las semillas, al reducir su probabilidad de depredación, aunque este rasgo afecta negativamente a la probabilidad de germinación. Por el contrario, la longitud de las semillas implicó una mayor probabilidad de germinación, a pesar de que ambas variables, longitud y diámetro, están positivamente correlacionadas (ver Capítulo 2). La selección positiva sobre el diámetro, ejercida por la depredación, es de mayor intensidad que la selección negativa que se ejerce en la germinación. Sin embargo, teniendo en cuenta que esta selección es posterior, se estarían favoreciendo, en definitiva, las semillas más alargadas del grupo de semillas anchas que sobrevivieron a la fase de depredación.

El efecto negativo que presenta el diámetro de la semilla sobre la probabilidad de germinación puede verse explicado por diferentes factores. Norden et al. (2009) explican las diferencias en la tasa de germinación entre semillas de distintos tamaños y especies, como una consecuencia de constricciones biofísicas. Por una parte, el embrión necesita alcanzar la turgencia necesaria para la elongación celular antes de germinar (Vazques-Yanes y Orozco-Segovia 1993) y las semillas pequeñas presentan mayor velocidad de absorción de agua ya que su razón superficie-área es mayor (Kikuzawa y Koyama 1999). Por último, la presencia de un endocarpo más grueso podría retardar la germinación limitando el intercambio de oxígeno o actuando como una constricción física para el crecimiento de la radícula. De hecho, Daws et al. (2005) encontraron, en un estudio inter-específico, que las semillas con endocarpo proporcionalmente menor presentaron mayor velocidad de germinación.

Los resultados que muestro aquí sobre la germinación de las semillas podrían tener algunas limitaciones. Por una parte, las semillas utilizadas en el experimento han sido extraídas directamente de los frutos, mientras que las semillas dispersadas en condiciones naturales han pasado por el tracto dispersivo de los frugívoros, lo cual puede tener una importancia crucial en las probabilidades de germinación de éstas. Existen varios mecanismos por los que los frugívoros podrían afectar a la germinación de las semillas. En primer lugar los frugívoros eliminan la pulpa, que en algunos casos presenta efectos inhibitorios sobre la germinación. En segundo lugar el material fecal que rodea a estas semillas podría tener un efecto fertilizante (p.e Traveset et al. 2001), y, por último, el endocarpo puede sufrir procesos de abrasión o escarificación mecánicos o químicos (Traveset et al. 2008). Además, las semillas que no han germinado podrían ser viables y presentar dormancia (Traveset 1998). Incluso la germinación tardía de las semillas podría representar una estrategia de las especies para dispersar unas semillas en el espacio y otras en el tiempo (Kelly et al. 2004). Algunas de las semillas sembradas en el experimento germinaron incluso hasta cuatro años después de la fecha de siembra (datos no mostrados). Por lo tanto, hay que interpretar estos resultados de manera cautelosa ya que podrían reflejar diferencias de germinación entre semillas, distintas a las que ocurrirían tras el paso por el tracto de los frugívoros y, consecuentemente, reflejar presiones de selección diferentes a las reales.

No he encontrado ninguna relación entre el tamaño de la semilla y la tasa de crecimiento de las plántulas aunque existen estudios que han encontrado esta relación tanto a nivel inter-específico como intra-específico aunque en ambos casos esta relación parece ser hábitat-específica (véase respectivamente Hanley et al. 2007, Rey et al. 2004).

4.3. Selección fenotípica

La selección ejercida sobre los fenotipos de las semillas individuales durante la depredación muestra la misma tendencia que la selección ejercida sobre las semillas en la etapa de dispersión (véase Capítulo 2), aunque la selección ejercida por la depredación ha sido de mayor intensidad. En ambas etapas, la selección total favorece a las semillas de mayor longitud y diámetro. Sin embargo, en la etapa de germinación, la fuerza de selección total sobre el

diámetro de la semilla es negativa, y lo es a pesar de la selección positiva sobre la longitud y de la correlación positiva entre ambos rasgos. Esta selección a nivel de semilla estaría favoreciendo, tal como he comentado, semillas alargadas y alometría de forma entre el fruto y la semilla.

A nivel materno, el tamaño medio de las semillas de los árboles así como su variabilidad intra-individual estuvieron relacionados con la probabilidad de supervivencia a la depredación de sus semillas. De este modo, mayor supervivencia a la depredación se correspondió con frutos y semillas más grandes y menos variables. Sin embargo, estos factores no explicaron las diferencias entre árboles en las probabilidades de germinación de dichas semillas. Por lo tanto, los patrones marcados por la depredación sobre el fenotipo materno no se invierten en la germinación. Además, estos patrones son similares a los patrones de selección marcados por la dispersión que encontré los capítulos 2 y 3, los cuales, en general, también favorecen árboles con frutos de mayor diámetro medio y con frutos y semillas con poca variabilidad intra-individual.

Las presiones de selección en contra de la variabilidad intra-individual encontrada en este estudio serían diferentes a lo esperado, si los animales antagonistas tuviesen patrones de selección parecidos a los mutualistas. En el caso de que ambos grupos de animales prefiriesen individuos con menor variabilidad intra-individual, los mutualistas favorecerían la desaparición de este carácter pero los antagonistas favorecerían su mantenimiento (Herrera 2009). Sin embargo, en este estudio he encontrado presiones de selección negativa tanto sobre la variación intra-individuos por parte de los animales dispersantes (véanse Capítulos 2 y 3) como por parte de los animales antagonistas (presente Capítulo).

5. Referencias

Alcántara, J., & Rey, P. (2003). Conflicting selection pressures on seed size: Evolutionary ecology of fruit size in a bird-dispersed tree, *Olea europaea*. *Journal of Evolutionary Biology*, 16, 1168-1176.

Blate, G. M., Peart, D. R., & Leighton, M. (1998). Post-dispersal predation on isolated seeds: A comparative study of 40 tree species in a Southeast Asian rainforest. *Oikos*, 82, 522-538.

Burnham, K. P., & Anderson, D. R. (2002). *Model selection and multimodel inference: A practical information-theoretic approach*. Springer Verlag. New York.

Crawley, M. J., & Ross, G. (1990). The population dynamics of plants *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, 330, 125-140.

Daws, M., Garwood, N., & Pritchard, H. (2005). Traits of recalcitrant seeds in a semi-deciduous tropical forest in Panamá: Some ecological implications. *Functional Ecology*, 19, 874-885.

Debain, S., Curt, T., & Lepart, J. (2003). Seed mass, seed dispersal capacity, and seedling performance in a *Pinus sylvestris* population. *Ecoscience*, 10, 168-175.

Dolan, R. W. (1984). The effect of seed size and maternal source on individual size in a population of *Ludwigia leptocarpa* (Onagraceae). *American Journal of Botany*, 71, 1302-1307.

Fenner, M. (1983). Relationships between seed weight, ash content and seedling growth in twenty-four species of Compositae. *New Phytologist*, 95, 697-706.

Ganeshaiah, K., & Shaanker, R. U. (1991). Seed size optimization in a wind dispersed tree *Butea monosperma*: A trade-off between seedling establishment and pod dispersal efficiency. *Oikos*, 60, 3-6.

García, D., Obeso, J. R., & Martínez, I. (2005). Rodent seed predation promotes differential recruitment among bird-dispersed trees in temperate secondary forests. *Oecologia*, 144, 435-446.

Hanley, M., Cordier, P., May, O., & Kelly, C. (2007). Seed size and seedling growth: Differential response of Australian and British Fabaceae to nutrient limitation. *New Phytologist*, 174, 381-388.

Harper, J. L., (1977). *Population biology of plants*. Academic Press, London.

Hedge, S., Shaanker, R., & Ganeshaiah, K. (1991). Evolution of seed size in the bird-dispersed tree *Santalum album* L.: A trade off between seedling establishment and dispersal efficiency. *Evolutionary Trends in Plants*, 5, 131-135.

Herrera, C. M. (2009). *Multiplicity in unity: Plant subindividual variation and interactions with animals*: University of Chicago Press. Chicago, Illinois, USA.

Howe, H., & Smallwood, J. (1982). Ecology of seed dispersal. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13, 201-228.

- Hulme, P. E. (1997). Post-dispersal seed predation and the establishment of vertebrate dispersed plants in Mediterranean scrublands. *Oecologia*, 111, 91-98.
- Hulme, P. E. (1998). Post-dispersal seed predation: Consequences for plant demography and evolution. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 1, 32-46.
- Janzen, D. H. (1970). Herbivores and the number of tree species in tropical forests. *The American Naturalist*, 104, 501-528.
- Jordano, P. (2000). Fruits and frugivory (pp 105-156) In Fenner, M. (ed.). *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities, Second edition*. CAB International Publishing. Wallingford.
- Kelly, D., Ladley, J. J., & Robertson, A. W. (2004). Is dispersal easier than pollination? two tests in New Zealand Loranthaceae. *New Zealand Journal of Botany*, 42, 89-103.
- Kerley, G., & Erasmus, T. (1991). What do mice select for in seeds? *Oecologia*, 86, 261-267.
- Kikuzawa, K., & Koyama, H. (2007). Scaling of soil water absorption by seeds: An experiment using seed analogues. *Seed Science Research*, 9, 171-178.
- Kollmann, J., Coomes, D., & White, S. (1998). Consistencies in post-dispersal seed predation of temperate fleshy-fruited species among seasons, years and sites. *Functional Ecology*, 12, 683-690.
- Lande, R., & Arnold, S. J. (1983). The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, 37, 1210-1226.
- Leishman, M. R., Wright, I. J., Moles, A. T., & Westoby, M. (2000). The evolutionary ecology of seed size. (pp. 31-59). In Fenner, M. (ed.). *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. CAB International, Cambridge.
- Martínez, I., García, D., & Obeso, J. R. (2007). Allometric allocation in fruit and seed packaging conditions the conflict among selective pressures on seed size. *Evolutionary Ecology*, 21, 517-533.
- Moegenburg, S. M. (1996). *Sabal palmetto* seed size: Causes of variation, choices of predators, and consequences for seedlings. *Oecologia*, 106, 539-543.
- Moles, A. T., Warton, D. I., & Westoby, M. (2003). Do small-seeded species have higher survival through seed predation than large-seeded species? *Ecology*, 84, 3148-3161.
- Morse, D. H., & Schmitt, J. (1985). Propagule size, dispersal ability, and seedling performance in *Asclepias syriaca*. *Oecologia*, 67, 372-379.

Norden, N., Daws, M. I., Antoine, C., Gonzalez, M. A., Garwood, N. C., & Chave, J. (2009). The relationship between seed mass and mean time to germination for 1037 tree species across five tropical forests. *Functional Ecology*, 23, 203-210.

Obeso, J. (1998). Patterns of variation in *Ilex aquifolium* fruit traits related to fruit consumption by birds and seed predation by rodents. *Ecoscience*, 5, 463-469.

Parciak, W. (2002). Environmental variation in seed number, size, and dispersal of a fleshy-fruited plant. *Ecology*, 83, 780-793.

Pearson, K. (1901). Mathematical contributions to the theory of evolution. IX. On the principle of homotyposis and its relation to heredity, to the variability of the individual, and to that of the race. Part I. Homotyposis in the Vegetable Kingdom. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 197, 285-379.

Rey, P. J., & Alcántara, J. M. (2000). Recruitment dynamics of a fleshy-fruited plant (*Olea europaea*): Connecting patterns of seed dispersal to seedling establishment. *Journal of Ecology*, 88, 622-633.

Rey, P., Alcántara, J., Valera, F., Sánchez-Lafuente, A., Garrido, J., Ramírez, J., & Manzaneda, A. (2004). Seedling establishment in *Olea europaea*: Seed size and microhabitat affect growth and survival. *Ecoscience*, 11, 310-320.

Schupp, E. W. (1995). Seed-seedling conflicts, habitat choice, and patterns of plant recruitment. *American Journal of Botany*, 82, 399-409.

Stanton, M. L. (1984). Seed variation in wild radish: Effect of seed size on components of seedling and adult fitness. *Ecology*, 65

Traveset, A. (1998). Effect of seed passage through vertebrate frugivores' guts on germination: A review. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 1, 151-190.

Traveset, A., Bermejo, T., & Willson, M. (2001). Effect of manure composition on seedling emergence and growth of two common shrub species of Southeast Alaska. *Plant Ecology*, 155, 29-34.

Traveset, A., Rodríguez-Pérez, J., & Pías, B. (2008). Seed trait changes in dispersers' guts and consequences for germination and seedling growth. *Ecology*, 89, 95-106.

Tripathi, R., & Khan, M. (1990). Effects of seed weight and microsite characteristics on germination and seedling fitness in two species of *Quercus* in a subtropical wet hill forest. *Oikos*, 57, 289-296.

Van der Wall, S. B. (1994). Removal of wind-dispersed pine seeds by ground-foraging vertebrates. *Oikos*, 69, 125-132.

Vázquez-Yanes, C., & Orozco-Segovia, A. (1993). Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24, 69-87.

Willson, M. F., & Traveset, A. (2000). The ecology of seed dispersal (pp. 61-86). In Fenner, M. (ed.). *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. Second edition. CAB International Publishing. Wallingford.

Winn, A. A. (1988). Ecological and evolutionary consequences of seed size in *Prunella vulgaris*. *Ecology*, 69, 1537-1544.

Wood, D. M., & Morris, W. F. (1990). Ecological constraints to seedling establishment on the Pumice Plains, mount St. Helens, Washington. *American Journal of Botany*, 77, 1411-1418.

Wulff, R. D. (1986). Seed size variation in *Desmodium paniculatum*: II. Effects on seedling growth and physiological performance. *The Journal of Ecology*, 74, 99-114.

Zar, J. H. (1999). *Biostatistical analysis*. Fourth edition. Prentice-Hall, London.

Zhang, J., & Maun, M. (1991). Establishment and growth of *Panicum virgatum* L. seedlings on a Lake Erie sand dune. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 118, 141-153.

Zhang, H., & Zhang, Z. (2008). Endocarp thickness affects seed removal speed by small rodents in a warm-temperate broad-leaved deciduous forest, China. *Acta Oecologica*, 34, 285-293.



CONCLUSIONS

- In aviary conditions, Blackbirds prefer big fruits consistently when feeding on Hawthorn and they are driven, to some extent, by innate preferences for fruit size.
- In the field, the preferences shown by frugivore birds are translated into phenotypic selection pressures on fruit and seed size traits. This selection is exerted over individual seed size traits and over mother plant phenotypes.
- Total selective pressures exerted over fruit and seed traits are different from direct selective pressures exerted by avian dispersers. This is due to the complex patterns of phenotypic selection exerted by seed-dispersing birds on fleshy fruit bearing plants. These patterns include indirect selection, quadratic selection and selection on trait combinations.
- The selection is exerted over the average value and over the within-individual variability of fruit and seed sizes. This variability is under the selective pressures exerted by both; mutualist and antagonist animals.
- The selective pressures exerted by seed-dispersing birds proved to be homogeneous among populations on a regional scale, but varied among populations from different regions throughout the latitudinal gradient of the natural range of distribution of the species in Europe. On a regional scale, total selective pressures exerted over individual seed size were positive. At the mother plant level, the selective pressures were negative over both fruit size and its variability.
- Abiotic conditions and plant age have an effect on the phenotypic traits of mother plants which are selected by seed-dispersing birds.
- Inter-population differences in selective pressures do not explain the phenotypic variations. The factor that best accounts for variation in fruit size between populations is seed size. Seed size is influenced by latitude and precipitation conditions.
- Post-dispersal selective pressures during seed predation and germination are exerted over seed and adult plant phenotypes.
- The selective pressures exerted in different moments; dispersal, predation and germination are different between them causing conflicting selective pressures over certain traits.
- Seed-predators favored larger seeds whereas seeds which were longer and narrower than average showed higher germination rates. At the plant level, seed predators favored the plants that showed higher mean values and lower within-individual variability in seed size. Germination and growth do not cause selective pressures on the phenotypes of adult plants.



CONCLUSIONES

- En condiciones de aviario, los mirlos prefieren los frutos de mayor tamaño cuando se alimentan de espinos albar y estas preferencias son, al menos en parte, innatas.
- En el campo, las preferencias de las aves dispersantes se traducen en selección fenotípica, tanto sobre los rasgos de las semillas individuales como de los árboles madre.
- Las presiones de selección total sobre los rasgos de frutos y semillas son diferentes a las presiones de selección directa ejercidas por los dispersantes. Esto es debido a que los patrones de selección son complejos e incluyen selección indirecta, cuadrática y selección sobre combinaciones de caracteres.
- La selección se ejerce sobre el valor medio y sobre la variabilidad intra-individual de los tamaños de frutos y semillas. Esta variabilidad está sujeta a presiones de selección ejercidas tanto por los animales mutualistas como por los antagonistas.
- Las presiones de selección ejercidas por las aves dispersantes son iguales en poblaciones cercanas entre sí, pero difieren entre poblaciones lejanas. A escala regional, las presiones de selección total sobre el tamaño de las semillas individuales fueron positivas. Al nivel de los árboles madre las presiones de selección resultaron negativas, tanto sobre los tamaños de los frutos como sobre su variabilidad.
- Las condiciones abióticas y la edad de la planta afectan a las características fenotípicas de los árboles sobre las que los dispersantes ejercen su selección.
- Las diferencias en las presiones de selección entre poblaciones no explicaron las diferencias en el tamaño de fruto medio producido por los árboles. Éstas resultaron determinadas por el tamaño de semilla que, a su vez, estuvo afectado por la latitud y la precipitación.
- En las etapas post-dispersivas de depredación y germinación, existen presiones de selección ejercidas tanto sobre los fenotipos de las semillas como de las plantas adultas.
- Las presiones ejercidas en las diferentes fases: dispersión, depredación y germinación, resultaron distintas y, sobre algunos rasgos, conflictivas.
- Al nivel de las semillas, los depredadores de semillas favorecieron semillas de mayor tamaño, mientras que en la germinación resultaron favorecidas semillas con menores diámetros y mayores longitudes. Al nivel de los árboles, la depredación favorece un mayor tamaño medio de semillas y menor variabilidad intra-individual, mientras que, ni la germinación ni la tasa de crecimiento, causaron presiones de selección sobre los fenotipos de los árboles.

